

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BÁRBARA VIERO DE NORONHA

MEMBRANA DE CELULOSE MODIFICADA COM POLIPIRROL PARA
EXTRAÇÃO DE CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE EM
MATRIZ AQUOSA

CURITIBA

2018

BÁRBARA VIERO DE NORONHA

MEMBRANA DE CELULOSE MODIFICADA COM POLIPIRROL PARA
EXTRAÇÃO DE CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE EM
MATRIZ AQUOSA

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação
em Química, Setor de Ciências Exatas,
Universidade Federal do Paraná como requisito
parcial à obtenção do título de Doutora em
Química.

Orientador: Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da
Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Humberto Marcolino
Jr.

CURITIBA

2018

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

N852m

Noronha, Bárbara Viero de

Membrana de celulose modificada com polipirrol para extração de contaminantes de preocupação emergente em matriz aquosa / Bárbara Viero de Noronha. – Curitiba, 2018.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2018.

Orientador: Bruno José Gonçalves da Silva. - Coorientador: Luiz H. Marcolino Junior. -

1. Polipirrol. 2. Espectrometria de Massas. 3. Cromatografia Gasosa. I. Universidade Federal do Paraná. II. Silva, Bruno José Gonçalves da . III. Marcolino Junior, Luiz H. IV. Título.

CDD: 547.7

Bibliotecária: Vanusa Maciel - CRB - 9/1928


TERMO DE APROVAÇÃO

**MEMBRANA DE CELULOSE MODIFICADA COM POLIPIRROL PARA
EXTRAÇÃO DE CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO
EMERGENTE EM MATRIZ AQUOSA**


por

BÁRBARA VIERO DE NORONHA


Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:



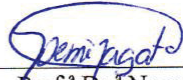
Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da Silva
Orientador
Dep. de Química – UFPR




Prof.ª Dr.ª Andrea Rodrigues Chaves
Instituto de Química – UFG



Prof. Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo
Dep. Acadêmico de Química e Biologia – UTFPR



Prof.ª Dr.ª Noemi Nagata
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Gilberto Abate
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 29 de agosto de 2018.

DEDICATÓRIA

“A todos que de alguma forma me incentivaram diariamente, me inspiraram com suas histórias de vida e me tornaram uma pessoa infinitamente melhor”.

“Aos futuros pesquisadores do Brasil”.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pois sem Ele nada seria possível.

Ao meu orientador, Professor Dr. Bruno pela acolhida e confiança, por toda a orientação, ensinamentos e também por toda paciência. Pelo exemplo de profissional dedicado e eficiente, pela atenção e incentivo ao longo desses anos.

Aos Professores Dr. Luiz Humberto Marcolino Jr. (coorientador), Dr. Márcio Bergamini, Dr. Marco Tadeu Grassi e Dr. Márcio Vidotti por disponibilizar suas estruturas laboratoriais para o desenvolvimento deste trabalho e por todas contribuições a esse trabalho.

Ao Professor Dr. Gilberto Abate que me acompanha desde o meu mestrado na UFPR corrigindo meus relatórios anuais, qualificações, dissertação e agora essa tese. Aos Professores Dra. Noemi Nagata, Dr. Júlio C.R. Azevedo e Dra. Andréa R. Chaves, membros desta banca de defesa de tese. Obrigada por todas preciosas contribuições.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná (PPGQ-UFPR) e a todos Professores do Departamento de Química pela formação científica, ensinamentos de vida e principalmente pela amizade. Orgulho de ter feito parte desta Universidade. Levo vocês no meu coração!

A todos alunos e amigos que fiz na UFPR que contribuíram direta ou indiretamente nesse trabalho. Ao CroMe, GQA e LabSense e aos outros laboratórios pela cooperação. Agradecida profundamente!

Aos “Sapatos”, Mikka, Pri, Salfer e Ava porque nunca haverá sapato que nos sirva! Compartilhamos dores, tristezas, alegrias e vitórias. Crescemos com todas adversidades que encontramos e tenho muito orgulho do que nos tornamos.

Meus amigos, que fiz em Curitiba, de outros cursos da UFPR ou sem vínculo universitário. Obrigada pela companhia, conversas, conselhos.

Ao CNPq e a CAPES pelo apoio financeiro.

Por fim quero agradecer toda minha família, especialmente meus pais Marcelo e Helena, minhas irmãs Marcele e Paolla, meu sobrinho Arthur. Minha madrinha Vergínia. Minha avó Emília. Meu marido Sandro. Cada um contribuiu, da sua maneira, para a conquista desse título. Amo vocês!

*Não vim até aqui pra desistir agora
Entendo você se você quiser ir embora
Não vai ser a primeira vez
Em menos de 24 horas
Mas eu não vim aqui pra desistir agora*

...

*Cada célula, todo fio de cabelo
Falando assim parece exagero
Mas se depender de mim
Eu vou até o fim*

(Humberto Gessinger, Até o fim - Dançando no Campo Minado - 2003)

RESUMO

Muitas fases extratoras estão disponíveis comercialmente para o preparo de amostras, empregando-se diversas técnicas de extração, como por exemplo, a extração em fase sólida (SPE) e a microextração em fase sólida (SPME). Apesar da diversidade das fases comerciais, estas apresentam seletividade limitada para determinação de compostos, principalmente aqueles com características polares. O desenvolvimento de novas fases extratoras mais seletivas, estáveis e de baixo custo, tem sido necessário para acompanhar o avanço instrumental dos métodos cromatográficos mais sensíveis e da alta frequência analítica para análises ambientais. Dentre os diversos possíveis novos materiais, os baseados em polímeros condutores, demonstram resultados promissores para esta aplicação, uma vez que apresentam um grande número de interações intermoleculares como, hidrofóbicas, ácido-base, π - π , dipolo-dipolo e permuta iônica entre polímero e analitos, permeabilidade (estrutura porosa), além de permitirem a adição de contra-íons ou de grupos funcionais ao monômero. Estas características são especialmente interessantes para aplicação deste material na extração de compostos hidrofílicos. Neste estudo, membranas de celulose foram modificadas com polipirrol (CM-PPy) para extrair contaminantes de preocupação emergente (CECs) em matrizes aquosas. Para a etapa de polimerização química, a membrana de celulose foi imersa em solução de pirrol $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e em solução de persulfato de amônio $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ por 40 minutos em banho de gelo. A CM-PPy foi acomodada em um suporte adequado para discos de SPE e amostras aquosas foram percoladas fortificadas com 14 contaminantes de preocupação emergente e padrão interno. As condições de sorção, como volume, pH, vazão da amostra e volume de solvente para dessorção foram otimizadas. As condições de compromisso otimizadas foram: pH da amostra 5,0, vazão média, volume de amostra de 100 mL e volume de solvente para dessorção de 1,0 mL. Posteriormente, a determinação dos compostos de interesse foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrômetro de massa (GC-MS). A faixa linear para os analitos variou de $0,05$ a $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ a 25 e $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, dependendo da detectabilidade de cada analito e apresentou R^2 acima de 0,99. O limite de quantificação foi de $0,05$ a $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, com desvio padrão relativo menor que 20%. Contaminantes de preocupação emergente foram encontrados em amostras de rio da cidade de Curitiba-PR ($n = 3$) como bisfenol A $6,39 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, cafeína $17,83 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e paracetamol $19,28 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Como vantagens da fase extratora proposta, destaca-se a potencialidade da fase extratora desenvolvida por seu caráter anfifílico, garantindo eficiência de extração tanto para compostos orgânicos de média e alta polaridade, estabilidade da fase e baixo custo, economia de solvente orgânico, possibilidade de reutilização da membrana e robustez do dispositivo.

Palavras-chave: Cromatografia Gasosa. Extração em Fase Sólida. Polipirrol. Contaminantes de Preocupação Emergente. Espectrometria de Massas.

ABSTRACT

Many extractive phases are commercially available for the preparation of samples, using various extraction techniques, such as solid phase extraction (SPE) and solid phase microextraction (SPME). Despite the diversity of the commercial phases, these present limited selectivity for determination of compounds, especially those with polar characteristics. The development of new, more selective, stable and low-cost extractive phases has been necessary to accompany the instrumental advancement of the most sensitive chromatographic methods and the high analytical frequency for environmental analyzes. Among the several possible new materials, those based on conducting polymers show promising results for this application, since they present a large number of intermolecular interactions such as hydrophobic, acid-base, π - π , dipole-dipole and ion exchange between polymer and analytes, permeability (porous structure), besides allowing the addition of counter-ions or functional groups to the monomer. These characteristics are especially interesting for the application of this material in the extraction of hydrophilic compounds. In this study, cellulose membranes were modified with polypyrrole (CM-PPy) to extract contaminants of emerging concern (CECs) in aqueous matrices. For the chemical polymerization step, the cellulose membrane was immersed in 0.10 mol L⁻¹ of pyrrole and 0.50 mol L⁻¹ of ammonium persulfate for 40 minutes in an ice bath. The CM-PPy was accommodated in a support suitable for SPE disks and aqueous samples were percolated fortified with 14 contaminants of emerging concern and internal standard. The sorption conditions, such as volume, pH, sample flow and volume of solvent for desorption were optimized. Optimized compromise conditions were: pH of sample 5.0, mean flow, sample volume of 100 mL and solvent volume for desorption of 1.0 mL. Subsequently, the determination of the compounds of interest was performed by gas chromatography coupled to the mass spectrometer (GC-MS). The linear range for the analytes ranged from 0.05 and 10 μ g L⁻¹ to 25 and 500 μ g L⁻¹, depending on the detectability of each analyte and presented R² above 0.99. The limit of quantification was 0.05 to 10 μ g L⁻¹, with relative standard deviation less than 20%. Contaminants of emerging concern were found in samples from the city of Curitiba-PR (n = 3) as bisphenol A 6.39 μ g L⁻¹, caffeine 17.83 μ g L⁻¹ and paracetamol 19.28 μ g L⁻¹. As an advantage of the proposed extractive phase, the potential of the extractive phase developed by its amphiphilic character is highlighted, guaranteeing extraction efficiency for both organic compounds of medium and high polarity, phase stability and low cost, organic solvent economy, possibility of reuse of the membrane and robustness of the device.

Keywords: Gas Chromatography. Solid Phase Extraction. Polypyrrole. Contaminants of Emerging Concern. Mass Spectrometry.

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 3.1	101
EQUAÇÃO 3.2	102

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 - VISÃO GERAL DAS VIAS DE CONTAMINAÇÃO E ELIMINAÇÃO DOS CECS EM MEIO AQUÁTICO	30
FIGURA 1.2 - ESPECTRÔMETRO DE MASSAS E MODOS DE ANÁLISE <i>FULL SCAN</i> E <i>SIM</i>	36
FIGURA 1.3 - MECANISMO GERAL DA REAÇÃO DE SILILAÇÃO	40
FIGURA 1.4 - FLUXOGRAMA DA ETAPA DE DERIVATIZAÇÃO	46
FIGURA 1.5 - MÚLTIPLOS PRODUTOS DE DERIVATIZAÇÃO PARA O PARACETAMOL 1,0 mg L ⁻¹ UTILIZANDO BSTFA	47
FIGURA 1.6 - ESPECTROS DE MASSAS PARA O FÁRMACO PARACETAMOL DERIVATIZADO COM BSTFA.....	48
FIGURA 1.7 - COMPARAÇÃO DOS CECS COM/SEM REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO	50
FIGURA 1.8 - EXEMPLOS DE REAÇÃO DE SILILAÇÃO	51
FIGURA 1.9 - ESPECTRO DE MASSAS DA MOLÉCULA ESTRONA (MODO <i>FULL SCAN</i>).....	52
FIGURA 1.10 - ESPECTRO DE MASSAS DA MOLÉCULA BISFENOL A (MODO <i>FULL SCAN</i>).....	53
FIGURA 1.11 - CROMATOGRAMA (MODO <i>FULL SCAN</i>) DOS 14 COMPOSTOS E PI COM DERIVATIZAÇÃO UTILIZANDO MSTFA + 1% TMSI.....	54
FIGURA 1.12 - CROMATOGRAMA (MODO <i>SIM</i>) DOS 4 ANALITOS COM PICOS CROMATOGRÁFICOS MENOS INTENSOS COM DERIVATIZAÇÃO UTILIZANDO MSTFA + 1% TMSI.....	55
FIGURA 2.1 - (A) DISPOSITIVO COMERCIAL PARA SPME E (B) REPRESENTAÇÃO DOS MODOS DE EXTRAÇÃO	58
FIGURA 2.2 - ESTRUTURA QUÍMICA E ORBITAIS ATÔMICOS DO PIRROL (Py).....	60
FIGURA 2.3 - REAÇÃO DE OXIDAÇÃO SIMPLIFICADA DO PIRROL (Py).....	62
FIGURA 2.4 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CÉLULA ELETROQUÍMICA UTILIZADA PARA ELETRODEPOSIÇÃO DE PPy EM HASTE DE AÇO INOX.....	68

FIGURA 2.5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CÉLULA ELETROQUÍMICA UTILIZADA PARA ELETRODEPOSIÇÃO DE PPy EM TELA DE AÇO INOX.....	71
FIGURA 2.6 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL VIA QUÍMICA UTILIZANDO TELA DE AÇO INOX COMO SUPORTE.....	71
FIGURA 2.7 - VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DA ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE PIRROL 0,10 mol L ⁻¹ NA PRESENÇA DE PERCLORATO DE SÓDIO 0,10 mol L ⁻¹ EM HASTE DE AÇO INOX.....	74
FIGURA 2.8 - VOLTAMOGRAMAS DE ALGUNS CECs UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO (GCE).....	76
FIGURA 2.9 - VOLTAMOGRAMAS DE ALGUNS CECs UTILIZANDO ELETRODO DE AÇO INOX MODIFICADO COM POLIPIRROL ..	77
FIGURA 2.10 - MECANISMOS DE FUNCIONALIZAÇÃO POR DOPAGEM DO POLIPIRROL	78
FIGURA 2.11 - CROMATOGRAMA DE 14 CECs (EM PRETO) <i>VERSUS</i> CROMATOGRAMA DE SORÇÃO DE CECs COM CONTROLE ELETROQUÍMICO (EM VERMELHO).....	79
FIGURA 2.12 - VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DA ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE PIRROL 0,10 mol L ⁻¹ EM TELA DE AÇO INOX.....	80
FIGURA 2.13 - FOTOGRAFIAS DAS TELAS DE AÇO INOX (<i>MESH</i> 400).....	81
FIGURA 2.14 - MICROGRAFIAS DAS TELAS DE AÇO INOX (<i>MESH</i> 400).....	81
FIGURA 2.15 - ÁREAS DE PICOS DOS 14 CECs UTILIZANDO SSM-PPy-SPE VIA POLIMERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA	83
FIGURA 2.16 - ÁREAS DE PICOS DOS 14 CECs UTILIZANDO SSM-PPy-SPE VIA POLIMERIZAÇÃO QUÍMICA	83
FIGURA 2.17 - INTERAÇÕES DO POLIPIRROL COM OS ANALITOS.....	84
FIGURA 3.1 - TIPOS DE FORMATO PARA SPE	87
FIGURA 3.2 - ETAPAS ENVOLVIDAS NA SPE.....	88
FIGURA 3.3 - ETAPAS PARA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL EM PAPEL DE CELULOSE VIA QUÍMICA.....	93
FIGURA 3.4 - ETAPAS PARA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL EM PAPEL DE CELULOSE VIA QUÍMICA COM BANHO DE GELO	94

FIGURA 3.5 - POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL EM PAPEL DE CELULOSE VIA QUÍMICA	94
FIGURA 3.6 - DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO COM A CM-PPy	95
FIGURA 3.7 - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE).....	99
FIGURA 3.8 - EQUEMA ILUSTRATO DO PROCEDIMENTO DA LLE PARA AS DUAS AMOSTRAS (SEM E COM EXTRAÇÃO UTILIZANDO A CM-PPy)	100
FIGURA 3.9 - MAPA DE LOCALIZAÇÃO DA BACIA DO RIO BELÉM E PONTOS AMOSTRAIS DE COLETA DE ÁGUA DE RIO	104
FIGURA 3.10 - MEMBRANA DE CELULOSE POLIMERIZADA EM ETAPAS...	105
FIGURA 3.11 - CROMATOGRAMA DOS ANALITOS COM MEMBRANA POLIMERIZADA <i>IN SITU</i>	106
FIGURA 3.12 - COMPARATIVO DE MEMBRANAS DE CELULOSE PARA SORÇÃO CONTENDO 14 ANALITOS EM AMOSTRA AQUOSA NA CONCENTRAÇÃO DE $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ EM TRIPLICATA	107
FIGURA 3.13 - COMPARATIVO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE UNIFIL® PARA SORÇÃO EM AMOSTRA AQUOSA CONTENDO 14 ANALITOS NA CONCENTRAÇÃO DE $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ (n=2)	109
FIGURA 3.14 - REAÇÃO DO MONÔMERO PIRROL COM PERSULFATO DE AMÔNIO	110
FIGURA 3.15 - IMAGENS DA MEMBRANA DE CELULOSE.....	111
FIGURA 3.16 MICROGRAFIA DE OUTRA REGIÃO DA MEMBRANA.....	112
FIGURA 3.17 - PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO NO FTIR-ATR.....	114
FIGURA 3.18 - AVALIAÇÃO DO VOLUME DE AMOSTRA PERCOLADO (n = 3), CONDIÇÕES: pH 4,0, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL.....	116
FIGURA 3.19 - OTIMIZAÇÃO SPE (VOLUME DE AMOSTRA) PARA TODOS ANALITOS. CONDIÇÕES: pH 4,0, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL (n = 3)	117
FIGURA 3.20 - AVALIAÇÃO DO pH DA AMOSTRA (n = 3), CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL.....	119

FIGURA 3.21 - OTIMIZAÇÃO SPE (pH DA AMOSTRA) PARA TODOS ANALITOS CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL (n = 3).....	120
FIGURA 3.22 - AVALIAÇÃO DA VAZÃO DA AMOSTRA AQUOSA (n = 3), CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, pH 5,0, E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL	122
FIGURA 3.23 - OTIMIZAÇÃO SPE (VAZÃO DA AMOSTRA)	123
FIGURA 3.24 - VOLUME DE SOLVENTE NECESSÁRIO PARA DESSORÇÃO, CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, pH 5,0, VAZÃO MÉDIA	125
FIGURA 3.25 - COMPARAÇÃO ENTRE EXTRAÇÕES UTILIZANDO CELULOSE E CM-PPy	127
FIGURA 3.26 - REPETIBILIDADE DA CM-PPy-SPE (n=6), CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, pH 5,0, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 1,0 mL DE METANOL.....	129
FIGURA 3.27 - CURVAS ANALÍTICAS DE TODOS OS ANALITOS	132

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 - CECs DETECTADOS EM ÁGUAS EM DIVERSOS PAÍSES	31
TABELA 1.2 - ESTRUTURA MOLECULAR E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS CECs DE INTERESSE DESTE TRABALHO	33
TABELA 1.3 - ALGUMAS CONDIÇÕES DE DERIVATIZAÇÃO ENCONTRADAS NA LITERATURA	38
TABELA 1.4 - REAGENTES UTILIZADOS NESTE TRABALHO	42
TABELA 1.5 - EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO	44
TABELA 1.6 - PARÂMETROS OPERACIONAIS DO GC-MS PARA DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS	45
TABELA 1.7 - TEMPO DE RETENÇÃO E PRINCIPAIS SINAIS DO ESPECTRO DE MASSAS DOS ANALITOS ESTUDADOS E PI (ÍON DE QUANTIFICAÇÃO, EM NEGRITO, E DEMAIS FRAGMENTOS DE CONFIRMAÇÃO)	51
TABELA 2.1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA TELE DE AÇO INOX 316 COM POLIMERIZAÇÃO DE Py VIA QUÍMICA E ELETROQUÍMICA	82
TABELA 3.1 - FASES SORVENTES PARA SPE	88
TABELA 3.2 - TIPOS DE MEMBRANAS DE CELULOSE TESTADAS PARA SUPORTE DA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL	96
TABELA 3.3 - NÍVEIS CODIFICADOS DAS VARIÁVEIS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^3 PARA PADRONIZAÇÃO DA REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO	96
TABELA 3.4 - ENDEREÇO E COORDENADAS DOS PONTOS AMOSTRAIS DO RIO BELÉM	103
TABELA 3.5 - NÍVEIS UTILIZADOS PARA REALIZAÇÃO DE REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO NAS MEMBRANAS DE CELULOSE	108
TABELA 3.6 - COMPOSIÇÃO DA MEMBRANA DE CELULOSE ANTES E DEPOIS DA EXTRAÇÃO	112
TABELA 3.7 - PRINCIPAIS BANDAS COM AS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS DA CM-PPy	114
TABELA 3.8 - PORCENTAGEM DE EXTRAÇÃO DA CM-PPy	126
TABELA 3.9 - PARÂMETROS DE MÉRITO ANALÍTICO DO MÉTODO CM-PPy-SPE-GC-MS	128

TABELA 3.10 - ESTUDOS DE INTRA E INTER ENSAIO	130
TABELA 3.11 - ESTUDOS DE EXATIDÃO (n=3).....	131
TABELA 3.12 - LOQ DO MÉTODO CM-PPy-SPE-GC/MS	131
TABELA 3.13 - DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES UTILIZANDO O MÉTODO CM-PPy-SPE-GC-MS DESENVOLVIDO.....	135

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4NP	- 4-Nonilfenol
4OP	- 4-Octilfenol
Å	- Angstrom
A ⁻	- Ânion
ACN	- Acetonitrila
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	- Association of Official Analytical Chemists
APAP	- Paracetamol (Acetaminofeno)
ATR	- Reflectância Total Atenuada (<i>Attenuated Total Reflectance</i>)
ATZ	- Atrazina
BPA	- Bisfenol A (<i>Bisphenol A</i>)
BSTFA	- N,O-bis(trimetil-silil) trifluoroacetamida
C	- Coulomb
C ⁺	- Cátion
CAF	- Cafeína
CECs	- Contaminante de Preocupação Emergente (<i>Contaminants of Emerging Concern</i>)
cm	- Centímetro
cm ²	- Centímetro ao quadrado
CMD	- Concentração Média Determinada
CME	- Concentração Média Experimental
CM-PPy	- Membrana de Celulose Modificada com Polipirrol
COOH	- Carboxila
CT	- Concentração Teórica
CV	- Coeficiente de Variação
DAD	- Detector de Arranjo de Diodos (<i>Diode Array Detector</i>)
DBPs	- Subprodutos de Desinfecção (<i>Disinfection by-Products</i>)
DC	- Corrente Contínua (<i>Direct Current</i>)
DDE	- Diclorodifeniltricloroetileno
DDT	- Diclorodifeniltricloroetano
DES	- Dietilestilbestrol
DMF	- Dimetilformamida

d-SPE	- Extração em Fase Sólida Dispersiva
E1	- Estrona
E2	- 17 β -Estradiol
E3	- Estriol
ECD	- Detector por Captura de Elétrons
EDCs	- Desreguladores Endócrinos (<i>Endocrine Disrupting Chemical</i>)
EDX	- Espectroscopia por Energia Dispersiva (<i>Energy Dispersive X-ray Spectroscopy</i>)
EE2	- 17 α -Etinilestradiol
EI	- Ionização por Elétrons
<i>et. al.</i>	- E outros(as) (<i>et alia</i>)
ETE	- Estação de Tratamento de Esgoto
eV	- Elétron-volt
FE	- Fase Estacionária
FID	- Detector por Ionização em Chama (<i>Flame Ionization Detector</i>)
FLD	- Detector de Fluorescência (<i>Fluorescence Detector</i>)
FM	- Fase Móvel
FTIR	- Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
g	- grama
GC	- Cromatografia em fase Gasosa (<i>Gas Chromatography</i>)
GCE	- Eletrodo de Carbono Vítreo (<i>Glassy Carbon Electrode</i>)
h	- horas
HPLC	- Cromatografia Líquida de alta eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HS	- <i>Headspace</i>
i.d.	- Diâmetro Interno
IBU	- Ibuprofeno
IT	- Ion Trap
j	- Densidade de Corrente
K _{ow}	- Coeficiente de Partição Octanol-Água
KPa	- Quilopascal
kV	- Quilo voltz
Kx	- 1000 (mil) vezes

L	- Litros
LC	- Cromatografia Líquida (<i>Liquid Chromatography</i>)
LOD	- Limite de Detecção (<i>Limit of Detection</i>)
LOQ	- Limite de Quantificação (<i>Limit of Quantification</i>)
m	- Metros
m/m	- Razão massa/massa
m/z	- Razão massa/carga (<i>mass-to-charge ratio</i>)
mA	- Miliampere
mC	- Milicoulomb
MDL	- Limite de Detecção do Método
MeOH	- Metano
mg	- Miligramas
min	- minutos
MIPs	- Polímeros Molecularmente Impressos (<i>Molecularly Imprinted Polymer</i>)
Mix	- Mistura
mL	- Mililitros
MM	- Massa Molar
mm	- Milímetros
mol	- Quantidade de matéria
MS	- Espectrometria de Massas (<i>Mass Spectrometry</i>)
MSPE	- Extração em Fase Sólida Magnética
MSTFA	- N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamida
MTBSTFA	- N-ter(butil-dimetil-silil)-N-metiltrifluoroacetamida
mV	- Milivolt
MΩ	- Megaohm
n	- Número de Ensaios
nd	- Não Detectado
ng	- Nanogramas
NH	- Imino
NH ₂	- Amino
nm	- Nanometros
OH	- Hidroxila
PA	- Padrão Analítico

PANI	- Polianilina
PDMS	- Poldimetilsiloxano
pg	- Picograma
pH	- Potencial Hidrogeniônico
PI	- Padrão Interno
pKa	- Logaritmo inverso da Constante de Dissociação Ácida
PPCPs	- Produtos Farmacêuticos e de Cuidados Pessoais (<i>Pharmaceuticals and Personal Care Products</i>)
PPy	- Polipirrol
PRO	- Progesterona
PSA	- Persulfato de Amônio
PTh	- Politiofeno
Py	- Pirrol
Q	- Carga
R	- Radical
RAMs	- Materiais de Acesso Restrito (<i>Restrict Access Materials</i>)
RF	- Radiofrequência
RSD	- Desvio Padrão Relativo (<i>Relative Standard Deviation</i>)
SBSE	- Extração Sortiva em Barra de Agitação (<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>)
SD	- Desvio Padrão
SEM	- Microscopia Eletrônica de Varredura (<i>Scanning Electron Microscope</i>)
SH	- Tiol
SI	- Sistema Internacional
SIM	- Monitoramento Seletivo de Íons (<i>Selective Ion Monitoring</i>)
SN ₂	- Ataque Nucleofílico tipo 2
sp ²	- Hibridização do Carbono tipo 2
SPE	- Extração em Fase Sólida (<i>Solid-Phase Extraction</i>)
SPME	- Microextração em Fase Sólida (<i>Solid-Phase Micro-Extraction</i>)
SSM	- Tela de Aço Inox (<i>Stainless Steel Mesh</i>)
SSR	- Haste de Aço Inox (<i>Stainless Steel Rod</i>)
T	- Temperatura
t	- tempo

TCD	- Detector de Condutividade Térmica (<i>Thermal Conductivity Detector</i>)
TCMS	- Trimetilclorosilano
TCS	- Triclosan
T _{ebu}	- Temperatura de Ebulição
TES	- Testosterona
TMS	- Trimetilsilano
TMSI	- Trimetilsililimidazol (<i>Trimethylsilylimidazole</i>)
ToF	- Espectrômetro de Massas de Tempo de Vôo (<i>Time of Flight</i>)
TR	- Resina TPR-100
UV	- Ultravioleta
V	- Volt
v/v	- Razão volume/volume
Vis	- Visível
µg	- Microgramas
µL	- Microlitros

LISTA DE SÍMBOLOS

- \approx - Aproximadamente
- $:$ - Divisão ou proporção
- $^{\circ}$ - Graus
- $>$ - Maior que
- \geq - Maior ou igual que
- $^{\text{TM}}$ - Marca Comercial
- $^{\circledR}$ - Marca Registrada
- $<$ - Menor que
- $\%$ - Porcentagem
- Σ - Somatório

SUMÁRIO

PREFÁCIO	26
JUSTIFICATIVA	28
CAPÍTULO 1	29
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO E REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTES	29
1.1 INTRODUÇÃO	29
1.1.1 Contaminantes de Preocupação Emergente em Amostras Ambientais	29
1.1.2 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS) ...	34
1.1.3 Derivatização.....	37
1.2 OBJETIVOS	41
1.2.1 Objetivo Geral	41
1.2.2 Objetivos Específicos	41
1.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
1.3.1 Reagentes e Padrões Analíticos	42
1.3.2 Equipamentos e Vidrarias Gerais.....	43
1.3.3 Sistema Cromatográfico	44
1.3.4 Etapa de Derivatização	45
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
1.4.1 Derivatização e Análise Cromatográfica.....	47
1.5 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	56
CAPÍTULO 2	57
EXTRATORES A BASE DE POLIPIRROL UTILIZANDO SUPORTE DE AÇO INOX	57
2.1 INTRODUÇÃO	57
2.1.1 Microextração em Fase Sólida (SPME).....	57
2.1.2 Polímeros Condutores como Novas Fases Extradoras	59
2.2 OBJETIVOS.....	67
2.2.1 Objetivo Geral	67
2.2.2 Objetivos Específicos	67
a) SSR-PPy-SPME.....	67
b) SSM-PPy-SPE	67
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	68

2.3.1 Sistema Eletroquímico.....	68
2.3.2 Métodos Eletroquímicos	69
2.3.3 Estudo comparativo entre eletrodo de carbono vítreo e SSR-PPy	69
2.3.4 Método SSR-PPy-SPME	70
2.3.5 Método para Eletrodeposição em Tela de Aço Inox SSM-PPy-SPE	70
a) <i>Via eletroquímica</i>	70
b) <i>Via química</i>	71
c) <i>Caracterização dos discos modificados com polipirrol SSM-PPy</i>	72
d) <i>Sorção dos CECs utilizando os discos modificados com polipirrol SSM-PPy</i> ..	72
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
2.4.1 Método SSR-PPy-SPME	73
a) <i>Métodos Eletroquímico para formação de filme de polipirrol</i>	73
b) <i>Estudo comparativo de eletrodos</i>	75
c) <i>SSR-PPy-SPME</i>	77
2.4.2 Método SSM-PPy-SPE.....	79
a) <i>Preparo das tela de aço inox modificada com polipirrol SSM-PPy</i>	79
b) <i>Caracterização das SSM-PPy</i>	80
c) <i>Método utilizando como extrator os discos SSM-PPy-SPE</i>	82
2.5 CONCLUSÃO PARCIAL	85
CAPÍTULO 3.....	86
MEMBRANAS DE CELULOSE COMO SUBSTRATO PARA FILMES DE	
POLIPIRROL	86
3.1 INTRODUÇÃO	86
3.1.1 Extração em Fase Sólida (SPE).....	86
3.2 OBJETIVOS	92
3.2.1 Objetivos Gerais.....	92
3.2.2 Objetivos Específicos	92
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	93
3.3.1 Experimentos Iniciais.....	93
3.3.2 Membrana de Celulose Modificada com Polipirrol (CM-PPy).....	95
3.3.3 Seleção da Membrana de Celulose	95
3.3.4 Otimização da reação de polimerização da membrana	96
3.3.5 Caracterização das Membranas de PPy	97

<i>a) Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (SEM/EDX)</i>	97
<i>b) Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada (ATR)</i>	97
3.3.6 Otimização das Variáveis da SPE	98
3.3.7 Estudo da Capacidade de Sorção da Membrana	98
3.3.8 Parâmetros de Mérito	100
<i>a) Curva Analítica e Linearidade</i>	101
<i>b) Precisão</i>	101
<i>c) Repetibilidade e Reprodutibilidade da Membrana</i>	101
<i>d) Exatidão</i>	102
<i>e) Limite de Quantificação (LOQ)</i>	102
3.3.9 Aplicação do Método em Amostras Reais	103
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
3.4.1 Utilização de Membranas de Celulose como Substrato para Formação de Filmes de Polipirrol	105
3.4.2 Seleção do Tipo de Membrana de Celulose	106
3.4.3 Otimização da Reação de Polimerização das Membranas	108
3.4.4 Caracterização das CM-PPy	110
<i>a) Imagens das CM-PPy</i>	110
<i>b) Espectros das CM-PPy por FTIR-ATR</i>	113
3.4.5 Padronização do Método CM-PPy-SPE	115
<i>a) Volume de Amostra</i>	115
<i>b) pH da Amostra</i>	119
<i>c) Vazão de Eluição da Amostra</i>	121
<i>d) Volume de Solvente</i>	124
3.4.6 Sorção da CM-PPy	126
3.4.7 Parâmetros de mérito	127
<i>a) Curva analítica e Linearidade</i>	127
<i>b) Repetibilidade e Reprodutibilidade</i>	128
<i>c) Exatidão</i>	130
<i>d) Limite de Quantificação (LOQ)</i>	131
3.4.8 Aplicação do Método Proposto	134
3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	137
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	138

PREFÁCIO

Para maior entendimento do leitor desta tese, os tópicos a seguir serão apresentados na forma capitulada. As três estratégias estudadas para o desenvolvimento de novas fases extratoras, utilizando polipirrol, para extração e determinação de contaminantes de preocupação emergente serão apresentadas separadamente. Cada seção contém um assunto descrito sucintamente.

CAPÍTULO 1

Apresentação de uma revisão bibliográfica sobre os contaminantes de preocupação emergente, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e reação de derivatização, objetivos, materiais e reagentes utilizados, desenvolvimento e apresentação dos resultados do método cromatográfico e da etapa de reação de derivatização utilizados em todas as estratégias para utilização do polipirrol como nova fase de extração.

CAPÍTULO 2

Neste capítulo será apresentada uma revisão bibliográfica sobre técnicas de preparo de amostras, como a Microextração em Fase Sólida (SPME) e sobre novas fases de extração em destaque o polipirrol, materiais e métodos, como reagentes, célula eletroquímica, eletrodos, formação do filme de polipirrol utilizada, os resultados da investigação do microdispositivo desenvolvido utilizando haste de aço inox como suporte para os filmes de polipirrol SSR-PPy-SPME como extrator de contaminantes de preocupação emergente. Também será apresentado os materiais e métodos, resultados dessa uma nova configuração de dispositivo utilizando como suporte uma tela de aço inox de malha de 400 (mesh) SSM-PPy-SPE para os filmes de polipirrol (polimerização via química e eletroquímica) e as conclusões parciais.

CAPÍTULO 3

Apresentação de uma revisão bibliográfica sobre a técnica SPE (Extração em Fase Sólida). Serão apresentados os tópicos referentes a materiais e métodos, resultados e conclusões do dispositivo PPy-SPE utilizando como suporte para os filmes de polipirrol uma membrana de celulose para extração de contaminantes de preocupação emergente em águas do rio Belém localizado no município de Curitiba/PR.

JUSTIFICATIVA

As determinações em níveis traços de multirresíduos de contaminantes em amostras ambientais, como ar, água e solo, são de extrema importância, pois geram valiosos dados para fins de segurança alimentar e avaliação do risco de exposição funcional e contaminação do meio ambiente.

Motivado pela demanda de métodos cromatográficos mais seletivos e sensíveis nas análises ambientais, o desenvolvimento de novas técnicas de preparo de amostras, uma das etapas mais morosas e complexas dos procedimentos analíticos, têm sido amplamente avaliados.

As técnicas de preparo de amostras, como a extração em fase sólida ("*solid-phase extraction*", SPE), permitem o isolamento e a pré-concentração dos analitos selecionados em diversas matrizes. No caso da SPE, os analitos são transferidos para a fase sólida onde são sorvidos durante o processo de extração e após são recuperados por eluição usando um líquido, fluido, ou por dessorção térmica na fase gasosa. As principais vantagens da SPE são o enriquecimento de concentrações traços dos analitos (pré-concentração), o *clean-up* (limpeza da amostra), a disponibilidade de diversas fases extratoras comerciais e altas taxas de recuperação.

Porém, as fases SPE disponíveis no comércio apresentam seletividade limitada para a determinação de algumas classes de contaminantes, principalmente aqueles com características polares. Uma das alternativas promissoras para o desenvolvimento de novas fases extratoras SPE, tem sido a avaliação de polímeros condutores para este fim, resultando em fases extratoras de SPE mais seletivas e de menor custo quando comparadas àquelas comerciais.

Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de uma fase extratora baseada em polímero condutor, polipirrol (PPy), para a aplicação em SPE em disco na determinação cromatográfica de diversos contaminantes orgânicos em amostras aquosas, para fins de controle ambiental.

CAPÍTULO 1

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO E REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTES

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 Contaminantes de Preocupação Emergente em Amostras Ambientais

Atualmente o desenvolvimento descontrolado de diversas atividades antrópicas, como por exemplo, indústria, agricultura e urbanização contribuem com a contaminação ambiental (GAVRILESCU et al., 2015; TIJANI et al., 2013), pois tais atividades utilizam diariamente a água, um recurso natural de grande importância, gerando efluentes com uma grande diversidade de compostos químicos.

Dentre os principais produtos classificados como contaminantes ambientais estão os denominados contaminantes de preocupação emergente (*Contaminants of Emerging Concern*, CECs), que são compostos não regulamentados, ou em processo de regulamentação, que podem ser uma potencial ameaça para o ambiente e para a saúde humana (SOPHIA A, LIMA, 2018).

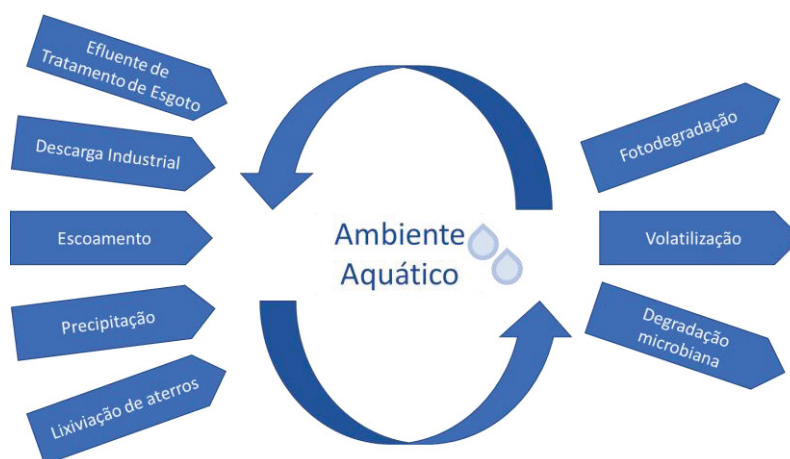
Fazem parte desses compostos, produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal (*Pharmaceuticals and Personal Care Products*, PPCPs) como drogas terapêuticas, drogas veterinárias, fragrâncias e cosméticos (BOYD et al., 2004); os desreguladores endócrinos (*Endocrine Disrupting Chemical*, EDCs) como estrógenos naturais e sintéticos, plastificantes, alquifenóis e ftalatos (VALLS-CANTENYS et al., 2016); subprodutos de desinfecção (*Disinfection By-Products*, DBPs) como os trihalometanos; entre outros compostos orgânicos recalcitrantes (SOPHIA A, LIMA, 2018; WANG, WANG, 2018).

As rotas de exposição de contaminantes emergentes no ambiente são complexas e diferem entre ambientes urbanos e rurais. O esgoto doméstico é uma das principais vias de contaminação, visto que, populações urbanas

consomem grandes quantidades de medicamentos, produtos de higiene pessoal, surfactantes e plastificantes (WILKINSON et al., 2017). Neste sentido, nos últimos anos, atenção especial tem sido dada à presença destes contaminantes em mananciais utilizados para o abastecimento público, bem como, na água distribuída à população após tratamento. No Brasil, esta questão recebe destaque devido à carência de políticas públicas sobre o tema, bem como, aos baixos índices de tratamento de esgoto, principal vetor de contaminação de águas superficiais e subterrâneas utilizadas como fontes de abastecimento público.

Na FIGURA 1.1, são apresentadas algumas rotas de contaminação de águas e também alguns tratamentos para eliminação dos contaminantes de preocupação emergente.

FIGURA 1.1 - VISÃO GERAL DAS VIAS DE CONTAMINAÇÃO E ELIMINAÇÃO DOS CECS EM MEIO AQUÁTICO



FONTE: Modificado de (WILKINSON, 2017).

Ainda há poucos estudos sobre os efeitos associados à exposição de espécies animais a contaminantes emergentes, dentre alguns deles pode-se citar alterações no sistema imunológico de mamíferos marinhos (BEINEKE et al., 2010), feminilização de peixes machos por 17β -estradiol (E2) e 17α -etinilestradiol (EE2) (DESBROW et al., 1998), feminilização e desmasculinização (castração química) de anfíbios machos por atrazina (HAYES et al., 2010), problemas no sistema reprodutivo de jacarés por DDT e seu metabólito DDE (BILA, DEZOTTI, 2007) e aumento da resistência de bactérias e cepas por triclosan (BEDOUX et al., 2012). Em seres humanos os efeitos incluem o aparecimento de câncer no sistema reprodutivo das filhas de mulheres que usaram dietilestilbestrol (DES)

(BILA, DEZOTTI, 2007), redução da quantidade de esperma e níveis de testosterona por bisfenol A (BPA) (ROCHESTER, 2013) e inibição do crescimento de células embrionárias humanas (POMATI et al., 2006).

Todos os contaminantes emergentes apresentam riscos ao meio ambiente, ainda que, seus reais riscos não sejam bem definidos, pois dependem da distribuição comportamento e interação entre as substâncias (LAPWORTH et al., 2012; RODIL et al., 2012). Os contaminantes emergentes, principalmente os que fazem parte da classe dos hormônios, antibióticos, analgésicos, anticonvulsivantes e reguladores lipídicos são constantemente investigados em matrizes aquosas (BORECKA et al., 2015; EVGENIDOU, KONSTANTINOU, LAMBROPOULOU, 2015; MARTÍN et al., 2015; PAÍGA et al., 2015).

Alguns exemplos de trabalhos que encontraram CECs e suas concentrações máximas detectadas são apresentados na TABELA 1.1.

TABELA 1.1 - CECs DETECTADOS EM ÁGUAS EM DIVERSOS PAÍSES

(continua)

Contaminantes de preocupação emergente (CECs)	Tipo de corpo d'água	País	CMD* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Atrazina	Rio	EUA	0,46	(GLASSMEYER et al., 2005)
Bisfenol A	Rio	Portugal	0,88	(RIBEIRO et al., 2009)
	Rio	Brasil	1,76	(SODRÉ et al., 2007)
	Rio	Alemanha	0,014	(KUCH, BALLSCHMITER, 2001)
	Rio	EUA	0,0621	(BLAIR et al., 2013)
Cafeína	Mar	Alemanha	0,0161	(WEIGEL, KUHLMANN, HÜHNERFUSS, 2002)
	Rio	Brasil	0,025775	(MONTAGNER, JARDIM, 2011)
	Lago	Canadá	0,0078	(KURISSERY et al., 2012)
	Esgoto	Índia	499,43	(ARCHANA, DHODAPKAR, KUMAR, 2016)
17 β -Estradiol	Rio	Brasil	0,523	(MONTAGNER, JARDIM, 2011)
Estriol	Rio	Brasil	0,0037	(KUSTER et al., 2009)
Estrona	Rio	Espanha	0,022	(RODRIGUEZ-MOZAZ, LÓPEZ DE ALDA, BARCELÓ, 2004)

(conclusão)

Contaminantes de preocupação emergente (CECs)	Tipo de corpo d'água	País	CMD* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
17 α -Ethinilestradiol	Rio	Brasil	0,31	(SODRÉ, LOCATELLI, JARDIM, 2010)
	Rio	EUA	0,831	(KOLPIN et al., 2002)
Ibuprofeno	ETE	Japão	0,699	(NAKADA et al., 2006)
	ETE	Canadá	0,51	(GUERRA et al., 2014)
4-Nonilfenol	ETE	França	0,9	(PASQUINI et al., 2014)
Paracetamol	Rio	Brasil	0,84	(SODRÉ, LOCATELLI, JARDIM, 2010)
	ETE	Índia	13,25	(ARCHANA, DHODAPKAR, KUMAR, 2016)
	Rio	EUA	0,070	(WANG et al., 2011)
Progesterona	Rio	EUA	0,178	(BLAIR, 2013)
Testosterona	Rio	EUA	0,0124	(BLAIR, 2013)
Triclosan	Rio	Dinamarca	0,035	(MATAMOROS et al., 2012)
	ETE	Japão	0,511	(NAKADA, 2006)
	Rio	Índia	6,34	(ARCHANA, DHODAPKAR, KUMAR, 2016)
	Rio	EUA	0,0054	(BLAIR, 2013)

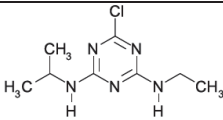
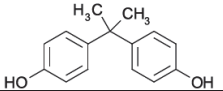
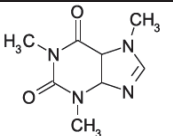
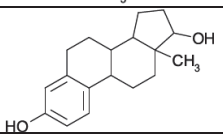
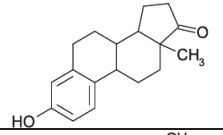
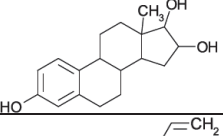
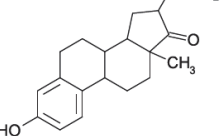
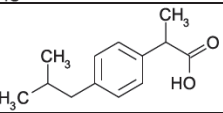
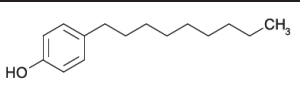
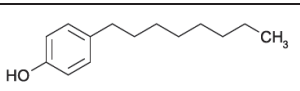
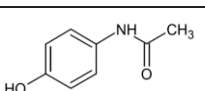
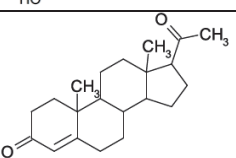
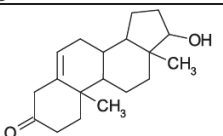
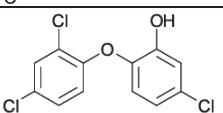
FONTE: A autora (2018).

NOTA: *CMD: Concentração média determinada.

Pode-se perceber, na TABELA 1.1, que normalmente esses compostos xenobióticos são encontrados em concentrações traço na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} , inclusive alguns casos na ordem de pg L^{-1} (KUCH, BALLSCHMITER, 2001; WEIGEL, KUHLMANN, HÜHNERFUSS, 2002), contemplando concentrações inferiores as concentrações máximas das agências reguladoras ou compostos ainda negligenciados pelas legislações (MURRAY, THOMAS, BODOUR, 2010; SANCHEZ-PRADO et al., 2015; STUART et al., 2012; TRAN, HU, ONG, 2013).

A TABELA 1.2 traz algumas informações físico-químicas a respeito de alguns dos principais CECs e que são os compostos de interesse deste trabalho.

TABELA 1.2 - ESTRUTURA MOLECULAR E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS CECs DE INTERESSE DESTA TRABALHO

Analitos	Estrutura Molecular	Massa molar (g mol ⁻¹)	log Kow	pKa	Solubilidade em água (mg L ⁻¹ , 25 °C)
Atrazina		215,680	2,61	1,70	33,0
Bisfenol A (4,4'-Isopropilidenedifenol)		228,286	3,32	9,78	300
Caféina		194,191	-0,07	0,92	20,0
β-Estradiol		272,382	4,01	10,3	13,0
Estrona		270,366	3,13	10,3	13,0
Estriol		288,381	2,45	10,3	32,0
17 α-Etinilestradiol		296,403	3,67	10,3	4,80
Ibuprofeno		206,281	3,97	4,85	11,0
4-Nonilfenol		220,350	5,76	10,3	3,00
4-Octilfenol		206,324	5,50	10,3	3,00
Paracetamol (Acetaminofeno)		151,163	0,46	9,46	14,3
Progesterona		314,462	3,87	18,9	15,0
Testosterona		288,424	3,32	19,1	15,0
Triclosan		289,542	4,76	7,68	10,0

FONTE: Adaptado de (CHEMICALIZE; PUBCHEM).

Como descrito anteriormente, muitos CECs ainda não são contemplados em legislações ambientais pelo mundo. Apenas alguns compostos isolados vêm sendo regulamentados, embora a grande maioria ainda permaneça sem definições legais quanto sua presença em diferentes matrizes. Ao mesmo tempo, diversos trabalhos têm abordado o problema em questão, tanto em relação a presença destes contaminantes, quanto aos seus efeitos crônicos sobre organismos vivos. Este interesse tem impulsionado, em muitos países, ações governamentais e não governamentais que buscam definir parâmetros universais de debate sobre o tema, incluindo a minimização de substâncias químicas e o estabelecimento de normas e condutas.

Neste sentido, métodos analíticos voltados à determinação dos mesmos em amostras ambientais estão, em sua maioria, condicionados a uma etapa de extração e pré-concentração a fim de se alcançar limites de quantificação e de detecção nos níveis de concentrações supracitados.

1.1.2 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS)

Um grande número de xenobióticos, incluindo os CECs, são lançados no meio ambiente continuamente e nos últimos anos foram estabelecidos métodos confiáveis para determinação desses poluentes em níveis traços (concentrações até ng L^{-1}) (BUCHBERGER, 2011). Ao encontro disto, técnicas como a cromatografia líquida ou gasosa acoplada à espectrometria de massas, em análises ambientais, tem permitido a determinação de uma pluralidade de analitos possibilitando uma avaliação mais abrangente de contaminantes (FATTA et al., 2007).

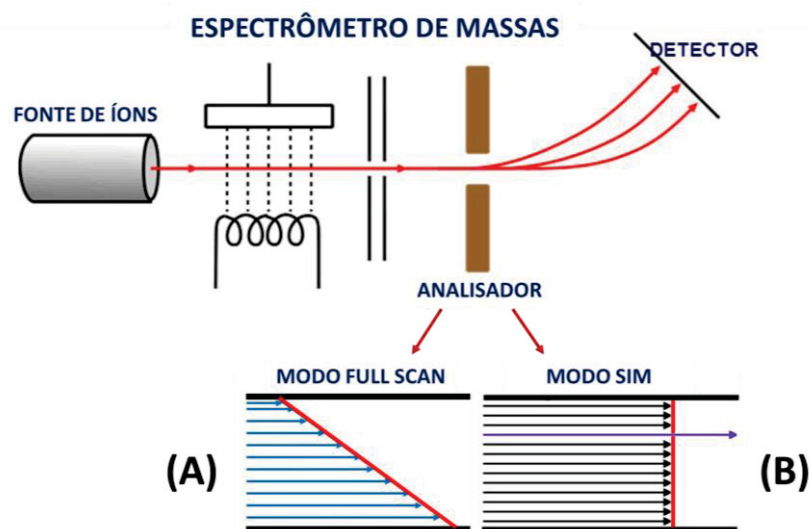
A GC é uma técnica de separação que se baseia na diferente distribuição de substâncias presentes na amostra, de acordo com a polaridade e volatilidade de cada substância, entre uma fase estacionária (coluna cromatográfica) e a fase móvel (gás de arraste), sendo esta técnica aplicada à determinação de compostos voláteis ou volatilizáveis, e termicamente estáveis. Após serem separadas na coluna cromatográfica, as substâncias analisadas chegam a um sistema de detecção apropriado. Diversos detectores têm sido acoplados à GC, entre eles: Detector por Condutividade Térmica (*Thermal Conductivity Detector* – TCD); Detector por Ionização em Chama (*Flame Ionization Detector* – FID); Detector por

Captura de Elétrons (*Electron Capture Detector* – ECD) e Detector de Nitrogênio e Fósforo (*Nitrogen Phosphorus Detector* – NPD). Porém, pela alta detectabilidade e geração de informações estruturais dos analitos e interferentes, fornecidas pelo espectro de massas, o Detector de Espectrometria de Massas (*Mass Spectrometry* – MS) tem sido amplamente utilizado nas determinações de compostos orgânicos (CHAUHAN, 2014).

O princípio básico da MS é a geração de íons de compostos orgânicos ou inorgânicos e a separação através da sua razão massa/carga (m/z), seguida da detecção qualitativa e quantitativa da respectiva m/z e abundância. A estrutura clássica de um espectrômetro de massas consiste, basicamente, na introdução da amostra, em uma fonte de íons, um analisador de massas e um detector (DE HOFFMANN, STROOBANT, 2007).

Primeiramente, a amostra, no caso do acoplamento com GC, é enviada já na sua forma volatilizada ao espectrômetro de massas através do acoplamento da saída da coluna cromatográfica com a fonte de ionização do sistema, em alto vácuo. A fonte de ionização é um dispositivo que promove a ionização dos analitos da amostra antes da sua entrada no analisador de massas. Existe uma grande variedade de técnicas de ionização, cuja seleção deve levar em conta as propriedades físico-químicas do analito e a energia transferida durante o processo de ionização. Para a cromatografia a gás, a fonte de ionização mais utilizada é a de ionização por elétrons (EI), onde um feixe de elétrons, geralmente com energia de 70 eV, bombardeia a amostra convertendo os analitos em íons com m/z igual à sua massa molecular. Neste modo de ionização, pela alta energia aplicada, considerável fragmentação dos compostos orgânicos em íons de m/z menores é evidenciada. Esta fragmentação e a consequente geração de um espectro de massas, que mostra a abundância de cada fragmento de massa ionizado, em condições determinadas pode ser utilizada para as análises qualitativas em GC-MS, além dos tempos de retenção na separação cromatográfica (DE HOFFMANN, STROOBANT, 2007; PEREIRA, AQUINO NETO, 2000).

Um esquema da estrutura clássica de um espectrômetro de massas é apresentado na FIGURA 1.2.

FIGURA 1.2 – ESPECTRÔMETRO DE MASSAS E MODOS DE ANÁLISE *FULL SCAN* E *SIM*

FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) linha diagonal (em vermelho) representa as energias que são variadas para permitir que um íon de razão m/z específica passe através do quadrupolo ao mesmo tempo. (B) linha reta (em vermelho) representa a energia que é aplicada para permitir que apenas um íon de razão m/z específica passe através do quadrupolo.

Após serem gerados na fonte de ionização, os íons são transferidos para uma região do equipamento, conhecida como analisador de massas, onde sua razão m/z é medida. Os principais tipos de analisadores utilizados são: quadrupolo (Q), aprisionamento de íons (IT) (do inglês *ion trap*) e tempo de voo (do inglês *Time of Flight* – ToF). Além disso, configurações híbridas como triplo-quadrupolo (QqQ), quadrupolo-TOF (Q_{ToF}), quadrupolo-*ion trap* (Q_{trap}) e alguns outros podem ser empregados.

Os modos de aquisição de dados em MS, representados na FIGURA 1.2, são o modo de varredura completa (*full scan*) e o modo de monitoramento seletivo de íons (*SIM* - “*Selective Ion Monitoring*”). No modo *full scan* é realizada uma varredura onde uma faixa extensa de razão massa carga (m/z) é analisada. Uma escala de varredura de massa típica abrange de 35 a 500 m/z e detectará fragmentos de compostos dentro desse intervalo durante um período definido de tempo. Com auxílio da biblioteca pode-se então realizar a comparação dos espectros de massa gerados para busca de similaridade sendo, portanto, bastante útil para análises qualitativas.

O modo *SIM* permite a detecção de analitos específicos com aumento de sensibilidade e precisão na análise, pois os íons são previamente selecionados (em detrimento à busca em uma ampla faixa de m/z), conforme seu tempo de retenção, a fim de analisar apenas razões m/z características de um composto alvo. Tipicamente, de dois a quatro íons são monitorados por composto, um para fins de quantificação e outros dois ou três para fins de confirmação. De acordo com a literatura, ao se comparar os dois modos de aquisição (*full scan* e *SIM*) na determinação de contaminantes emergentes (hormônios), todos se mostraram lineares e reproduzíveis. No entanto, com o modo de aquisição de dados *SIM*, têm-se maior detectabilidade (em termos de razão sinal/ruído) e seletividade, enquanto uma maior linearidade (R^2), faixa linear mais extensa, foi evidenciada com o modo *full scan* (DALLEGRAVE, 2012).

Porém, independentemente do modo de aquisição empregado nas análises via GC, e como descrito anteriormente, os compostos devem ser voláteis e termicamente estáveis. Em algumas situações, estas condições não são totalmente atendidas e uma etapa prévia à determinação cromatográfica deve ser realizada com o intuito de aplicar a técnica de GC. Tal procedimento é conhecido como derivatização e será, de forma concisa, apresentada a seguir.

1.1.3 Derivatização

Muitas vezes nas análises químicas, os compostos de interesse se encontram em uma forma incompatível com a técnica analítica empregada. Para contornar esse problema é possível realizar um processo químico que modifique a estrutura química do analito gerando produtos passíveis de serem determinados pela técnica analítica desejada, por exemplo, cromatográficas, espectrofotométricas UV-Vis. Esse processo é denominado de derivatização.

A reação de derivatização é uma alternativa utilizada para contornar esse impedimento. A derivatização é um processo químico que modifica a estrutura química do analito gerando novos produtos com a finalidade de melhorar o perfil cromatográfico (BECKER, 2012; LIMA, 2013). Compostos com baixa volatilidade, alta polaridade e baixa estabilidade térmica são difíceis de serem analisados por GC e uma alternativa é a inclusão da etapa de derivatização no procedimento

analítico (LIMA, 2013; ORATA, 2012). Desta forma, as potencialidades da técnica de GC comparada a LC, como alta resolução e eficiência, podem ser alcançadas.

Compostos com grupos funcionais, como por exemplo, carboxila (-COOH), hidroxila (-OH), tiol (-SH), amino (-NH₂) e imino (=NH) são difíceis de serem analisadas por GC, pois não apresentam volatilidade compatível com a técnica ($T_{\text{ebu}} \approx 300\text{ }^{\circ}\text{C}$). A determinação dessas substâncias por GC em sua forma química original pode acarretar em interações com os grupos silanóis (R₃-SiOH) da fase estacionária ou com impurezas do sistema cromatográfico, resultando em uma menor detecção e uma pior resolução cromatográfica (BECKER, 2012).

A reação de derivatização é a substituição dos hidrogênios livres ativos das funções químicas (-COOH, -OH, -SH, -NH₂, =NH) por grupamentos mais apolares que não apresentam a característica de formação de ligações de hidrogênio. Essa substituição resulta na modificação da estrutura química do composto de interesse e também de seus fragmentos, nos casos onde a MS é utilizada como sistema de detecção, contribuindo para o aumento da resposta do detector ou gerando espectros de massas mais simples de serem analisados (LIMA, 2013; SADANALA et al., 2012).

As reações de derivatização podem ser realizadas simplesmente por adição do reagente derivatizante à amostra, no próprio injetor do GC ou após o processo de extração (derivatização pós-extração) (BASHEER et al., 2006; QUINTANA et al., 2004). A TABELA 1.3 resume alguns procedimentos encontrados na literatura para a determinação de CECs empregando-se a etapa de derivatização.

TABELA 1.3 - ALGUMAS CONDIÇÕES DE DERIVATIZAÇÃO ENCONTRADAS NA LITERATURA

(continua)

Analitos	Matriz	Agente derivatizante	Condições da reação de derivatização	Referência
TCS	Água destilada e Águas superficiais	Anidrido acético	200 mL	(BAGHERI, SARAJI, 2003)
E1, E2, E3, EE2	Águas superficiais e efluentes urbanos	MTBSTFA BSTFA BSTFA:TMSI	200 µL 85 °C 100 min	(QUINTANA, 2004)
E1, E2, EE2	Águas superficiais	BSTFA MSTFA MTBSTFA	50-100 µL 60 °C 10-60 min	(BASHEER et al., 2005)

(conclusão)

Analitos	Matriz	Agente derivatizante	Condições da reação de derivatização	Referência
TCS	Peixe	MSTFA	150 µL 60 °C 45 min	(MOTTALEB et al., 2009)
APAP, CAF, IBU	Efluentes urbanos	MSTFA:TMSI	10-300 µL 70 °C 60 min	(BECKER, 2012)
E1, E2, EE2, PRO	Águas superficiais	MSTFA MSTFA:TMSI	50 µL 55 °C 60 min	(DALLEGRAVE, 2012)
BPA, E1, E2 E3, EE2, IBU, 4NP, 4OP	Efluentes	BSTFA:TCMS	100 µL 80 °C 30 min	(LIMA, 2013)
APAP, ATZ, BPA, E1, E2, E3, EE2, IBU, 4NP, 4OP, PRO, TES, TCS	Água ultrapura	MSTFA:TMSI	50 µL 60 °C 30 min	(CASTILHOS et al., 2017)

FONTE: A autora (2018).

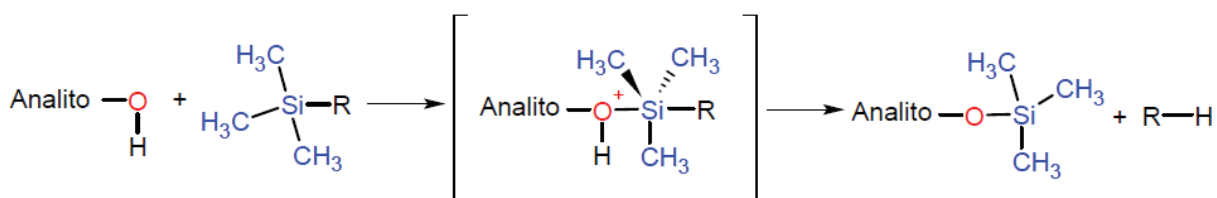
LEGENDA: APAP - paracetamol.
ATZ - atrazina.
BPA - bisfenol A.
CAF - cafeína.
E1 - estrona.
E2 - β-estradiol.
E3 - estriol.
EE2 - 17α-etinilestradiol.
IBU - ibuprofeno.
4NP - 4-nonilfenol.
4OP - 4-octilfenol.
PRO - progesterona.
TES - testosterona.
TCS - triclosan.

Como observado na TABELA 1.3, a silição tem sido a metodologia mais utilizada para a derivatização de CECs, sendo os agentes derivatizantes mais comuns o BSTFA N,O-bis(trimetil-silil)trifluoroacetamida e o MSTFA N-metil-N(trimetil-silil)trifluoroacetamida. As condições de tempo e temperatura geralmente variam de 15 a 60 min e de 40°C a 80°C. Apesar da adição de mais uma etapa no processo analítico, estes trabalhos reforçam o significativo ganho de detectabilidade dos analitos derivatizados quando comparado às análises dos compostos que não utilizaram a etapa de derivatização, o que contribui para obter menores limites de quantificação dos métodos.

As reações de derivatização utilizadas para GC dividem-se em três tipos gerais: a alquilação, a acilação e a sililação que é a reação mais amplamente utilizada. Através destas reações químicas, compostos altamente polares, tais como ácidos orgânicos, amidas, compostos poli-hidroxi e aminoácidos tornam-se adequados para a técnica (ORATA, 2012). Essas reações caracterizam-se por serem simples, rápidas, reprodutíveis, de única etapa e por apresentarem alto rendimento sob condições brandas (BASHEER, 2005).

Ao realizar uma sililação, bloqueia-se sítios próticos, havendo uma redução de interações do tipo dipolo-dipolo, elevando a volatilidade dos compostos, resultando em picos estreitos e simétricos. Como pode-se observar na FIGURA 1.3, a reação ocorre através de um ataque nucleofílico do tipo SN_2 (BECKER, 2012; DALLEGRAVE, 2012; LIMA, 2013; ORATA, 2012). Nos hormônios estrógenos, a derivatização corresponde à substituição do hidrogênio ativo de um grupo polar (-OH) por um grupamento a base de organosilano (trimetilsilil). Os derivatizantes mais utilizados para E1, E2, E3 e EE2 são o BSTFA e o MSTFA (BASHEER, 2005; ORATA, 2012).

FIGURA 1.3 - MECANISMO GERAL DA REAÇÃO DE SILILAÇÃO



FONTE: Adaptado de (DALLEGRAVE, 2012).

LEGENDA: R varia de acordo com o tipo de derivatizante utilizado.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar novos dispositivos de extração, simples e de baixo custo, baseado em polímeros condutores, como o polipirrol (PPy), para sorção e posterior determinação de contaminantes de preocupação emergente (CECs) em amostras de água por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver do método cromatográfico para determinação de 14 contaminantes de preocupação emergente, e padrão interno (PI), via GC-MS;
- Adaptar a reação de derivatização da literatura para a utilização em todos os estudos dessa tese.

1.3 MATERIAIS E MÉTODOS

1.3.1 Reagentes e Padrões Analíticos

Para este trabalho foram escolhidos analitos das mais importantes classes de contaminantes de preocupação emergente como hormônios, fármacos, estimulantes, pesticidas, surfactantes, plastificantes e agentes bactericidas.

A água utilizada para o preparo das soluções aquosas foi destilada e purificada (ultrapura) com resistividade controlada em 18,2 MΩ cm a 25 °C (Millipore®, Direct-Q®, São Paulo, Brasil). Os reagentes e padrões utilizados nesse trabalho apresentaram grau de pureza acima de 97%, e estão especificados na TABELA 1.4.

TABELA 1.4 - REAGENTES UTILIZADOS NESTE TRABALHO

Reagentes	Classificação	Fórmula	Marca	(continua)
				Pureza
1-(trimetil-silano)imidazol (TMSI)	Catalisador da derivatização	$C_6H_{12}N_2Si$	Sigma-Aldrich	99,0 %
17α-Etinilestradiol	Hormônio	$C_{20}H_{24}O_2$	Fluka	99,3 %
4-Nonilfenol	Plastificante	$C_{15}H_{24}O$	Fluka	99,9%
4-Octilfenol	Plastificante	$C_{14}H_{22}O$	Supelco	99,9%
Acetato de etila	Solvente	$C_4H_8O_2$	M. Chemicals	Grau GC-MS
Acetona	Solvente	C_3H_6O	Panreac	Grau HPLC
Atrazina	Pesticida	$C_8H_{14}ClN_5$	Chem Service	98,9%
Bisfenol A	Plastificante	$C_{15}H_{16}O_2$	Supelco	99,9 %
Bisfenol A D ₁₆	Padrão Interno (PI)	$C_{15}D_{16}O_2$	Supelco	98 %
Cafeína	Estimulante	$C_8H_{10}N_4O_2$	Sigma-Aldrich	P.A.
Estriol	Hormônio	$C_{18}H_{24}O_3$	Fluka	99,3 %
Estrona	Hormônio	$C_{18}H_{22}O_2$	Fluka	99,3%
Argônio	Gás	Ar	Air Liquid	99,995%
Hélio	Gás	He	Air Liquid	99,999%
Ibuprofeno	Fármaco	$C_{13}H_{18}O_2$	Fluka	99,9%
Metanol	Solvente	CH_3OH	J.T. Backer	Grau HPLC
N-metil-N(trimetil-silil)trifluoroacetamida (MSTFA)	Derivatizante	$CF_3CON(CH_3)Si(CH_3)_3$	Fluka	98,5%
Paracetamol	Fármaco	$C_8H_9NO_2$	Sigma-Aldrich	P.A.

Reagentes	Classificação	Fórmula	Marca	(conclusão)
				Pureza
Persulfato de amônio	Agente Oxidante	$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$	Vetec	99,0%
Pirrol	Monômero	$\text{C}_4\text{H}_5\text{N}$	Sigma-Aldrich	98%
Progesterona	Hormônio	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	Fluka	99,8%
Testosterona	Hormônio	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_2$	Fluka	99,7%
Triclosan	Bactericida	$\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Cl}_3\text{O}_2$	Sigma-Aldrich	97%
β -Estradiol	Hormônio	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$	Sigma-Aldrich	P.A.

FONTE: A autora (2018).

O pirrol (Py) foi previamente destilado a temperatura de 120 °C, prevenindo assim, os processos de oxidação. Para isso, foi utilizado um sistema de destilação simples e, após destilação, o monômero foi acondicionado em frascos âmbar a baixas temperaturas (-20 °C).

As soluções estoque individuais de cada analito foram preparadas pesando-se aproximadamente 10,00 \pm 0,03 mg (balança Mettler-Toledo, XSE 205DU, 0,01 mg/0,1 mg) de cada padrão e dissolvendo-os em metanol, obtendo-se soluções padrão de concentração 1,00 mg mL⁻¹.

As soluções de padrão diluídas dos contaminantes (*mix*) de 1000,0, 100,0 e 1,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas por diluição com o mesmo solvente. Todas as soluções foram estocadas em tubos de vidro âmbar, previamente calcinados a 400°C por 4h, com tampa de polietileno (protegida internamente com papel alumínio calcinado) e mantidas a - 20°C, vedadas externamente com parafilm®.

As amostras de água fortificadas foram preparadas transferindo-se quantidades do *mix* de CECs, em balão volumétrico de 100 mL, evaporando-se o solvente (metanol) com fluxo de nitrogênio. Em seguida o volume foi completado com água ultrapura para reconstituição da mesma.

1.3.2 Equipamentos e Vidrarias Gerais

Os equipamentos gerais utilizados neste trabalho estão especificados na TABELA 1.5.

TABELA 1.5 – EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO

Equipamento	Marca	Modelo	Resolução/ Características
Aagitador v3rtex	IKA	V3rtex 1	
Balança anal3tica	Mettler-Toledo	AL204	0,1 mg/0,0001 g
Balança anal3tica	Mettler-Toledo	XS205	0,01 mg/0,1 mg
Concentrador de amostras	RVC 2-18	CDplus	
pHmetro	Metrohm	780	
Sistema de ultra purificaç3o de 3gua	Milli-Q	Millipore	
Sistema de manifold para SPE	Agilent	VacElut	20 entradas
Bomba de v3cuo	Tecnal	TE-0581	

FONTE: A autora (2018).

As principais vidrarias utilizadas foram *vials* de capacidade de 2 mL, *inserts* para *vials* com capacidade de 100 µL, tubos de ensaio com tampa rosque3vel com capacidade de 15 mL, bal3es volum3tricos de volume de 10 e 100 mL e b3queres de 100 e 500 mL.

Estas vidrarias foram previamente lavadas exaustivamente com 3gua corrente. Posteriormente, enxaguadas 10 vezes com 3gua destilada, foram sonicadas por 10 min e lavadas mais 10 vezes com 3gua ultrapura. As vidrarias volum3tricas secaram naturalmente em uma bancada limpa e as demais (n3o volum3tricas) foram calcinadas em mufla a 400 °C por cerca de 4 h.

1.3.3 Sistema Cromatogr3fico

Para identificaç3o e quantificaç3o dos analitos, foi utilizado um sistema cromatogr3fico *Shimadzu*[®], constitu3do por um cromat3grafo a g3s (modelo GCMS2010 Plus) acoplado 3 um espectr3metro de massas (modelo TQ8040). O sistema cont3m amostrador autom3tico AOC5000 para an3lises l3quidas, *headspace* (HS) e por microextraç3o em fase s3lida (SPME) e o tratamento de dados realizado pelo *software* GCMSsolution. Foi utilizado h3lio 5.0 (99,9990% de pureza) como g3s de arraste e a ionizaç3o por impacto de el3trons (70 eV). As an3lises foram realizadas no Laborat3rio multiusu3rio de equipamentos de pequeno e m3dio porte do DQ/UFPR. Alguns dos par3metros operacionais est3o descritos na TABELA 1.6.

TABELA 1.6 - PARÂMETROS OPERACIONAIS DO GC-MS PARA DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS

Injetor	Temperatura do injetor	250 °C
	Volume de injeção	1 µL
	Modo de injeção	<i>Split</i> (1:10; 1:20; 1:50)
GC	Coluna	SH-Rtx-5MS (Shimadzu) 30m x 0,25mm x 0,25µm
	Gás de arraste	He (5.0)
	Vazão do gás de arraste	1 mL min ⁻¹ (sob vazão constante)
	Rampa de aquecimento	Coluna: 100 °C (2 min)
		Rampa 1: 10 °C min ⁻¹ até 160 °C (2 min);
		Rampa 2: 5 °C min ⁻¹ até 210 °C;
		Rampa 3: 10 °C min ⁻¹ até 280 °C;
qMS	Temperatura da linha de transferência Temperatura da fonte de ionização Analisador de massas Energia de ionização	Rampa 4: 5 °C min ⁻¹ até 300 °C (1 min);
		Rampa 5: 10 °C min ⁻¹ até 320 °C (4 min).
		300 °C
		300 °C
		Quadrupolo
		70 eV
	Modo de registro dos íons	<i>Full Scan</i> (m/z 50 – 500)
		<i>SIM</i> (<i>Single Ion Monitoring</i>)
		<i>Monitoramento de íons seletivo</i> - 3 fragmentos (1 para quantificação e 2 para confirmação)

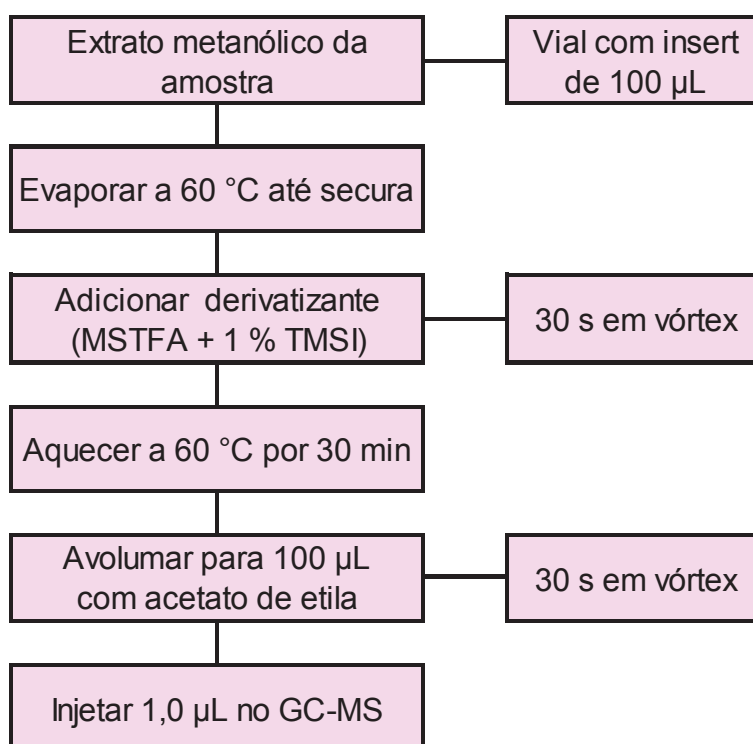
FONTE: A autora (2018).

As condições cromatográficas foram: volume de injeção de 1 µL, modo de injeção *split* (em diferentes razões - 1:10 ou 1:20 ou 1:50) e pulso de pressão de 75 kPa por 1 minuto. O tempo total de corrida foi de 40 minutos no modo *full scan* e *SIM* (Monitoramento Seletivo de Íons). Para o modo *SIM*, três fragmentos de razões massa/carga (*m/z*) distintos foram selecionados para cada analito, sendo um para quantificação e outros dois para confirmação.

1.3.4 Etapa de Derivatização

Para a etapa de derivatização dos compostos polares, em um vial de 2 mL, transferiu-se 100 µL da solução de trabalho de 1,00 µg mL⁻¹ e evaporou-se o solvente em um concentrador de amostras à vácuo a 60 °C por aproximadamente 15 minutos. Após a secagem total adicionou-se 25 µL de derivatizante:catalisador - MSTFA:TMSI 1% (v/v) - e então o vial foi vedado e reconduzido à aquecimento a 60 °C por 30 minutos. Ao finalizar essa etapa, o extrato foi avolumado para 100 µL com acetato de etila e injetou-se 1,0 µL no sistema GC-MS. As etapas deste processo são apresentadas na forma de um fluxograma na FIGURA 1.4.

FIGURA 1.4 - FLUXOGRAMA DA ETAPA DE DERIVATIZAÇÃO



FONTE: A autora (2018).

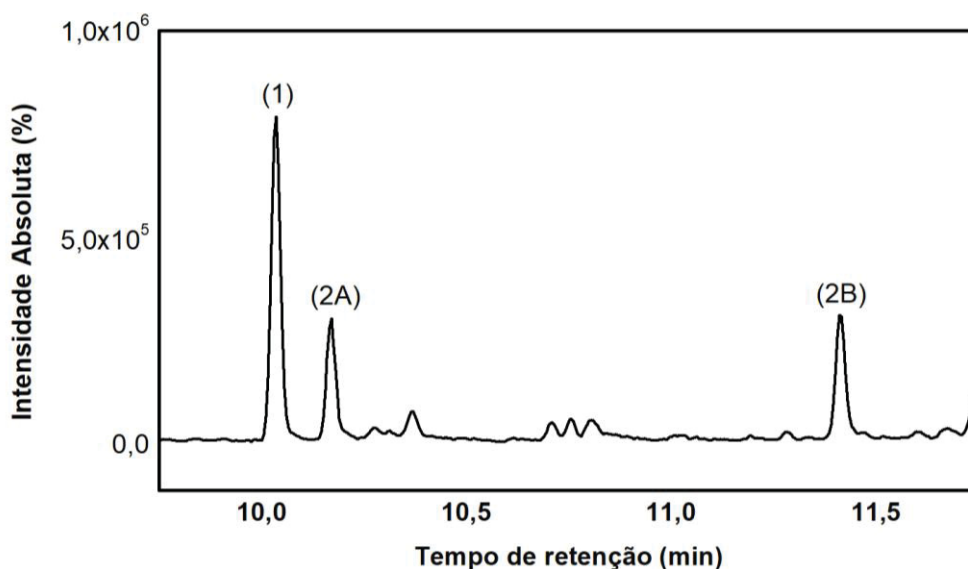
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Derivatização e Análise Cromatográfica

Derivatização é um processo de modificação de compostos, que visa gerar novos produtos com melhores propriedades cromatográficas. Alguns motivos para requerer uma etapa de derivatização são: a melhoria da estabilidade térmica de alguns compostos (contendo grupos funcionais polares), incremento da volatilidade e a introdução na molécula de um marcador (RODRIGUEZ-MOZAZ, LÓPEZ DE ALDA, BARCELÓ, 2004; SCHUMMER et al., 2009). Com isso, há um aumento significativo na separação, sensibilidade e seletividade dos analitos (DE LIMA GOMES et al., 2011).

Foram testados como agente derivatizante o BSTFA e o MSTFA. Com a utilização de apenas o derivatizante foi observado múltiplos produtos de derivatização, como a FIGURA 1.5, no caso o fármaco paracetamol.

FIGURA 1.5 - MÚLTIPLOS PRODUTOS DE DERIVATIZAÇÃO PARA O PARACETAMOL 1,0 mg L⁻¹ UTILIZANDO BSTFA



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (1) ibuprofeno.

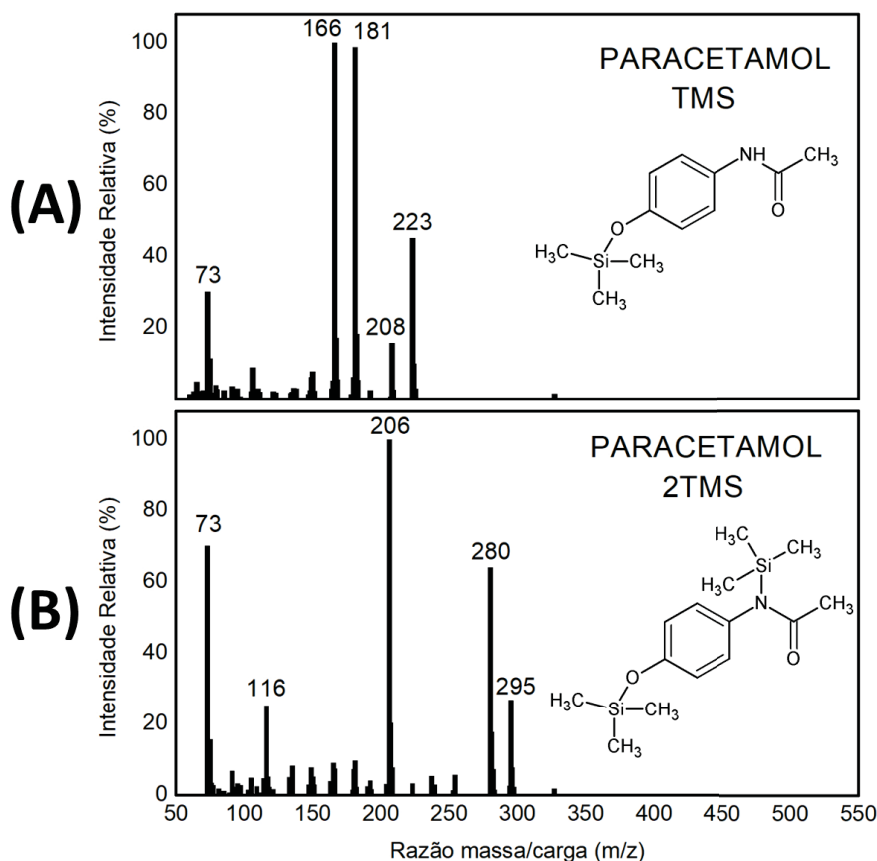
(2A) paracetamol 2TMS.

(2B) paracetamol TMS.

O paracetamol possui dois sítios passivos de derivatização (dois hidrogênios ativos) sendo possível duas formas derivatizadas o paracetamol

mono e o disubstituído. Os espectros de massas para essas duas formas possíveis de substituição dos hidrogênios ativos da molécula são apresentados na FIGURA 1.6.

FIGURA 1.6 – ESPECTROS DE MASSAS PARA O FÁRMACO PARACETAMOL DERIVATIZADO COM BSTFA



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) paracetamol TMS.

(B) paracetamol 2TMS.

Podemos perceber que utilizando apenas o agente derivatizante, neste caso está discriminado o agente BSTFA, nem sempre a reação de sililação gera somente um produto, podendo acarretar erros na quantificação do analito (falsos positivos e negativos) por haver mais de um pico cromatográfico para integração de áreas. Os múltiplos produtos ocorrem devido aos impedimentos estéricos dos compostos de interesse (BECKER, 2012).

Como alternativa para melhorar a eficiência na reação de derivatização, utilizar catalisador é uma opção para que todos os hidrogênios ativos da molécula sejam substituídos pelo TMS e convertam em apenas um único produto de reação

proporcionando uma rota preferencial e contribuindo também para um menor tempo de reação.

Então, para a otimização da reação de derivatização, baseou-se em estudos prévios (CASTILHOS, 2017) do grupo Grupo de Cromatografia e Técnicas de Microextração (CROME-UFPR) com algumas modificações quanto a quantidade de derivatizante, temperatura e tempo de reação selecionados. Utilizou-se como agente derivatizante MSTFA em conjunto com o catalisador TMSI, pois tem sido o conjunto de reagentes mais eficiente para derivatização da classe dos hormônios e outros CECs.

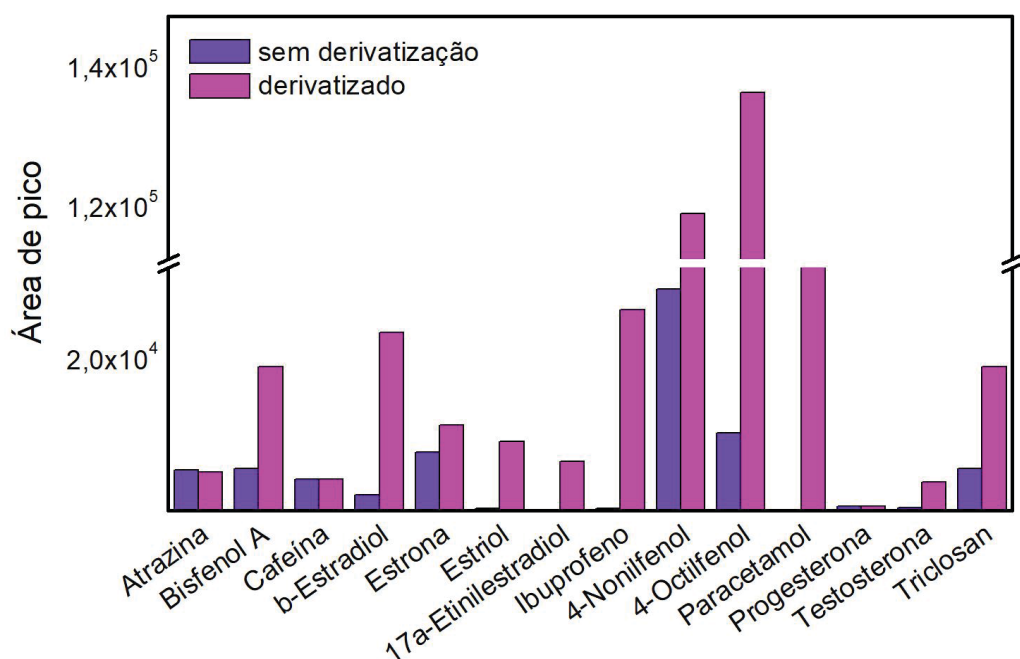
Ao utilizá-los houve um aumento significativo na área dos picos dos compostos comparados aos não derivatizados, facilitando a identificação dos analitos. Além disso, o emprego do catalisador TMSI foi fundamental para evitar que ocorresse a formação de múltiplas espécies derivatizadas no caso dos compostos com mais de 1 hidrogênio ativo, o que acarretaria em diferentes picos cromatográficos para o mesmo composto, dificultando a análise qualitativa e quantitativa dos mesmos.

Foi utilizado acetato de etila, um solvente aprótico de média polaridade, no intuito de solubilizar todos os analitos e ao mesmo tempo impedir que o próprio solvente sofresse derivatização, interferindo nas análises cromatográficas.

Os analitos selecionados possuem em sua estrutura grupamentos susceptíveis à derivatização, neste caso, compostos orgânicos contendo hidrogênios ativos provenientes especialmente de hidroxilas de grupamentos fenólicos ou hidrogênios de grupos amina, que apresentam uma elevada polaridade e pouca volatilidade (LITTLE, 1999).

Na FIGURA 1.7, são apresentadas as áreas de pico dos contaminantes de preocupação emergente com e sem a etapa de reação de derivatização ($n = 3$). Pode-se perceber um aumento de sinal significativo dos compostos que possuem grupos funcionais passivos de derivatização. Em especial para os casos dos compostos 17 α -etinilestradiol, ibuprofeno e paracetamol, cuja identificação só foi possível através de picos com intensidade mensurável, para as estruturas derivatizadas. Por outro lado, nota-se também, que, para os compostos atrazina, cafeína e progesterona não houve alteração nas intensidades de pico, uma vez que tais compostos não contém hidrogênio ativo passível de sofrer derivatização.

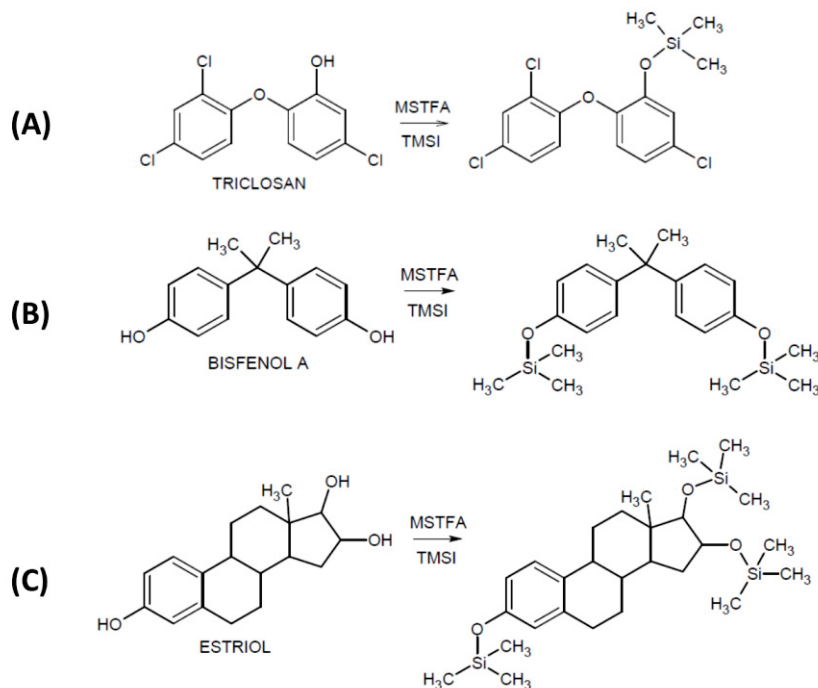
FIGURA 1.7 – COMPARAÇÃO DOS CECS COM/SEM REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO



FONTE: A autora (2018).

A FIGURA 1.8 ilustra algumas reações de sililação de alguns analitos, utilizando o agente derivatizante MSTFA:TMSI, selecionados para esse trabalho. Para fins de identificação, é importante salientar que alguns dos analitos de interesse possuem mais de um hidrogênio ativo e, neste caso, mais de um grupo silano pode ser adicionado à molécula inicial, gerando, por exemplo, estruturas bi ou trissubstituídas, com incrementos de razão massa/carga - $m/z = 73$, correspondente ao fragmento trimetilsilano ($-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$). Nestes casos, o uso do catalisador TMSI foi fundamental para promover a substituição de forma seletiva, não sendo evidenciada a formação de múltiplos derivados, com obtenção do produto mais substituído, para um mesmo analito.

FIGURA 1.8 – EXEMPLOS DE REAÇÃO DE SILILAÇÃO



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (a) triclosan (monossustituído).
 (b) bisfenol A (dissustituído).
 (c) estriol (trissustituído).

A TABELA 1.7 contém algumas informações dos analitos como tempo de retenção e principais sinais do espectro de massas (m/z dos íons de quantificação e de confirmação). Os sinais foram selecionados pelo espectro de massas proveniente da análise de amostras padrão dos analitos, sendo o sinal m/z de maior intensidade aquele utilizado para as análises quantitativas e outros dois utilizados como fragmentos para análise qualitativa, ou seja, de confirmação.

TABELA 1.7 - TEMPO DE RETENÇÃO E PRINCIPAIS SINAIS DO ESPECTRO DE MASSAS DOS ANALITOS ESTUDADOS E PI (ÍON DE QUANTIFICAÇÃO, EM NEGRITO, E DEMAIS FRAGMENTOS DE CONFIRMAÇÃO)

(continua)

Analito	Tempo de retenção (min)	Fragmentos (m/z)
Ibuprofeno	11,705	160 , 161, 75
Paracetamol	11,970	206 , 280, 295
Atrazina	14,305	200 , 215, 173
4-Octilfenol	15,625	179 , 278, 180
Cafeína	16,230	194 , 109, 193
4-Nonilfenol	17,600	179 , 292, 180
Triclosan	21,500	200 , 347, 345

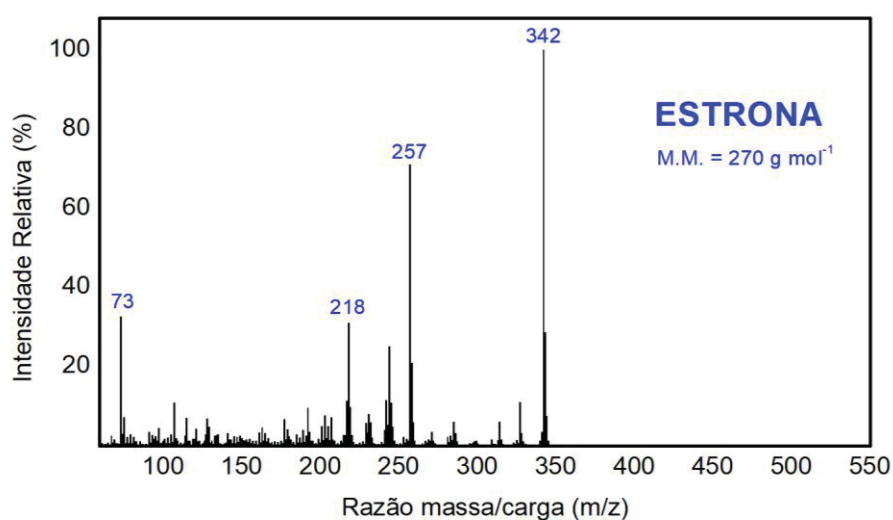
(conclusão)

Analito	Tempo de retenção (min)	Fragmentos (m/z)
Bisfenol A-d ₁₆ (PI)	22,545	368, 369, 370
Bisfenol A	22,650	357, 358, 359
Estrona	27,005	342, 257, 218
β-Estradiol	27,370	285, 416, 326
Testosterona	27,480	129, 270, 226
17α-Etinilestradiol	28,375	425, 285, 232
Progesterona	28,795	124, 191, 314
Estriol	29,195	311, 296, 297

FONTE: A autora (2018).

É importante salientar que para aqueles compostos que passaram pela etapa de derivatização, um incremento de $m/z = 73$, ou múltiplos deste valor, pode ser observado com relação à massa molar do referido composto. Como exemplo, o composto estrona (derivatizada com MSTFA:TMSI), que possui massa molar de 270 g mol^{-1} , apresentou sinal de maior intensidade (íon molecular) em $m/z = 342$, característico da entrada de 1 único grupo trimetilsilano em sua estrutura derivatizada, ou seja, perda de 1 hidrogênio ativo e incremento de $m/z = 73$. Os outros fragmentos, de $m/z = 257$ e $m/z = 218$, foram aqueles com intensidade relativa satisfatória e reprodutível (FIGURA 1.9).

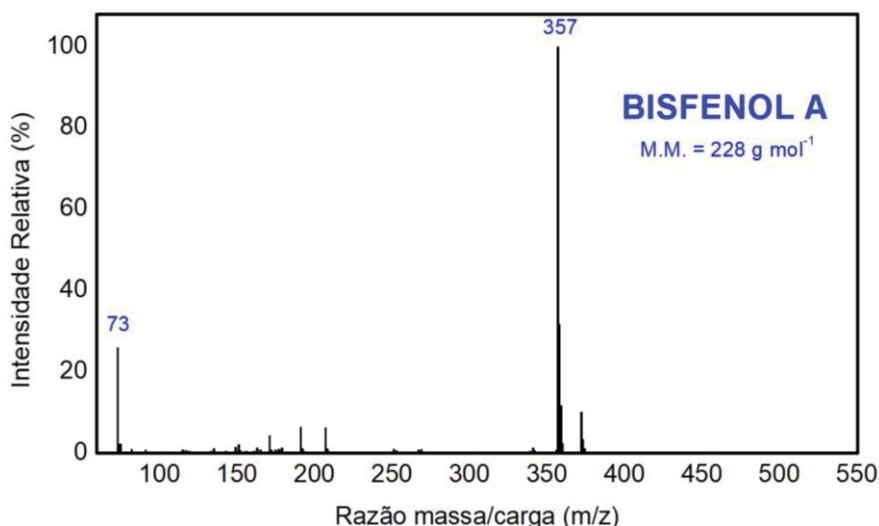
FIGURA 1.9 – ESPECTRO DE MASSAS DA MOLÉCULA ESTRONA (MODO *FULL SCAN*)



FONTE: A autora (2018).

Em outros casos, como para o bisfenol A ($MM = 228 \text{ g mol}^{-1}$), derivatizado também com MSTFA:TMSI, a evidência do íon molecular em $m/z = 357$ é referente à substituição dupla de grupos trimetilsilano (incremento de $m/z = 146$) e perda de um grupo metila ($-\text{CH}_3$, $m/z = 15$) causada pela fragmentação da molécula no processo de ionização (FIGURA 1.10).

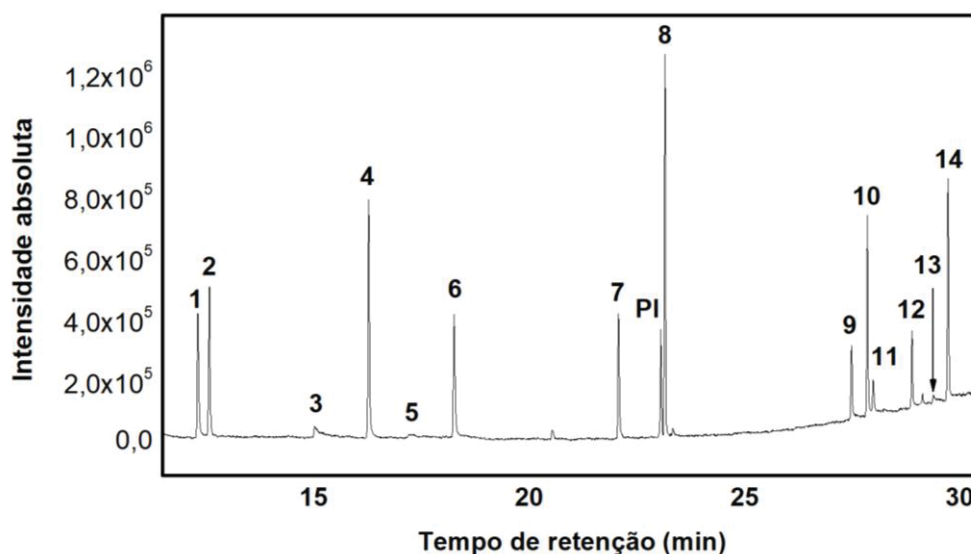
FIGURA 1.10 - ESPECTRO DE MASSAS DA MOLÉCULA BISFENOL A (MODO *FULL SCAN*)



FONTE: A autora (2018).

Os padrões dos analitos foram analisados e identificados separadamente. A identificação foi realizada combinando-se informações obtidas pelos tempos de retenção e pelos fragmentos dos íons específicos (m/z). Diferentes rampas de aquecimento foram avaliadas, sendo a que originou maior resolução cromatográfica para os 14 analitos na presença do padrão interno (PI - Bisfenol A- d_{16}), em menor tempo de análise (30 minutos) foi a descrita na metodologia (TABELA 1.6), a saber: 100°C (2 min), $10^\circ\text{C min}^{-1}$ até 160°C (2 min), 5°C min^{-1} até 210°C , $10^\circ\text{C min}^{-1}$ até 280°C , 5°C min^{-1} até 300°C (1 min), $10^\circ\text{C min}^{-1}$ até 320°C (4 min) – FIGURA 1.11.

FIGURA 1.11 – CROMATOGRAMA (MODO *FULL SCAN*) DOS 14 COMPOSTOS E PI COM DERIVATIZAÇÃO UTILIZANDO MSTFA + 1% TMSI

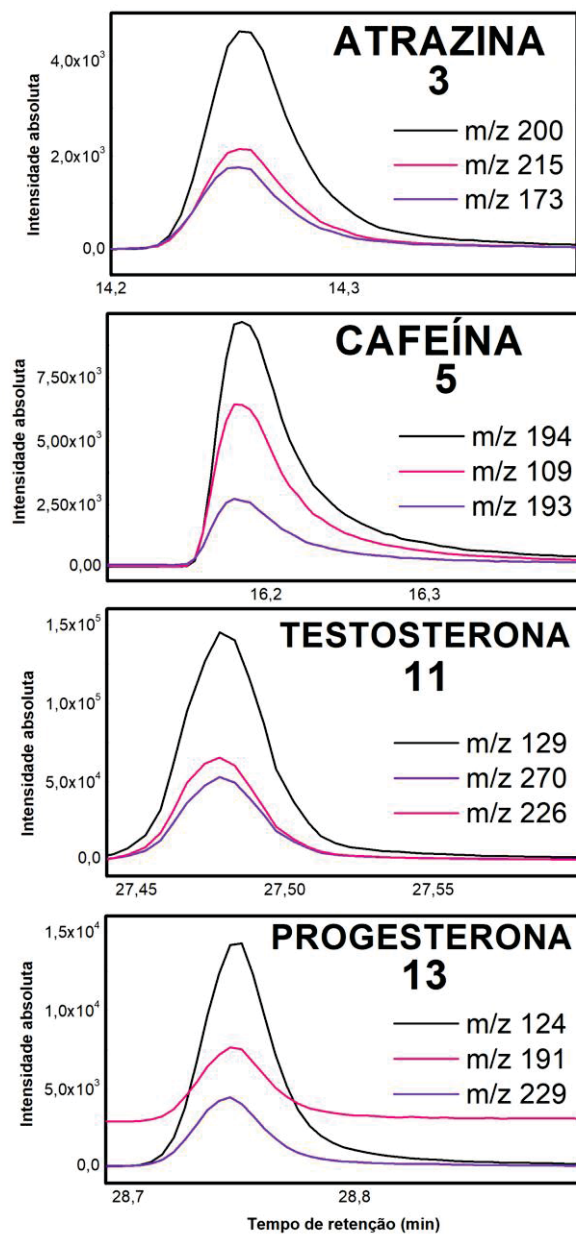


FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (1) ibuprofeno.
 (2) paracetamol.
 (3) atrazina.
 (4) 4-octilfenol.
 (5) cafeína.
 (6) 4-nonilfenol.
 (7) triclosan.
 (PI) bisfenol A-d₁₆.
 (8) bisfenol A.
 (9) estrona.
 (10) β-estradiol.
 (11) testosterona.
 (12) 17α-etinilestradiol.
 (13) progesterona.
 (14) estriol.

Como observado na FIGURA 1.11, alguns compostos, em especial aqueles que não sofreram a etapa de derivatização, como a atrazina (3), a cafeína (5) e a progesterona (13) possuíram baixa intensidade de pico quando utilizado o modo *fullscan* de aquisição de dados. Para contornar este problema e, ao mesmo tempo, inserir maior seletividade às análises, o modo de aquisição *SIM* foi selecionado para o andamento do projeto, sendo também utilizado para a etapa de quantificação. A FIGURA 1.12 ilustra os cromatogramas parciais no modo *SIM* dos 4 compostos com menor intensidade de sinal quando utilizado o modo *fullscan*, evidenciando intensidade satisfatória para análises qualitativas e quantitativas.

FIGURA 1.12 - CROMATOGRAMA (MODO S/M) DOS 4 ANALITOS COM PICOS CROMATOGRÁFICOS MENOS INTENSOS COM DERIVATIZAÇÃO UTILIZANDO MSTFA + 1% TMSI



FONTE: A autora (2018).

1.5 CONCLUSÕES PARCIAIS

Para a determinação dos contaminantes de preocupação emergente empregou-se a técnica de GC-MS, cujas condições de programação de temperatura precisaram ser otimizadas garantindo maior eficiência e resolução à separação cromatográfica. O método cromatográfico mostrou-se rápido, cerca de 30 minutos para a separação dos 14 analitos e padrão interno, totalizando 40 minutos com a etapa de limpeza da coluna.

A etapa de derivatização foi adaptada ao método, baseada em pesquisa bibliográfica e resultados conseguidos pelo Grupo CROME-UFPR anteriormente, sendo as condições de compromisso selecionadas 60 °C, 30 minutos, 25 µL de MSTFA:TMSI (99:1, v/v). Através da reação de derivatização pode-se determinar os analitos não voláteis permitindo melhora nas propriedades cromatográficas, como por exemplo, maior resolução e sensibilidade dos compostos de interesse.

CAPÍTULO 2

EXTRATORES A BASE DE POLIPIRROL UTILIZANDO SUPORTE DE AÇO INOX

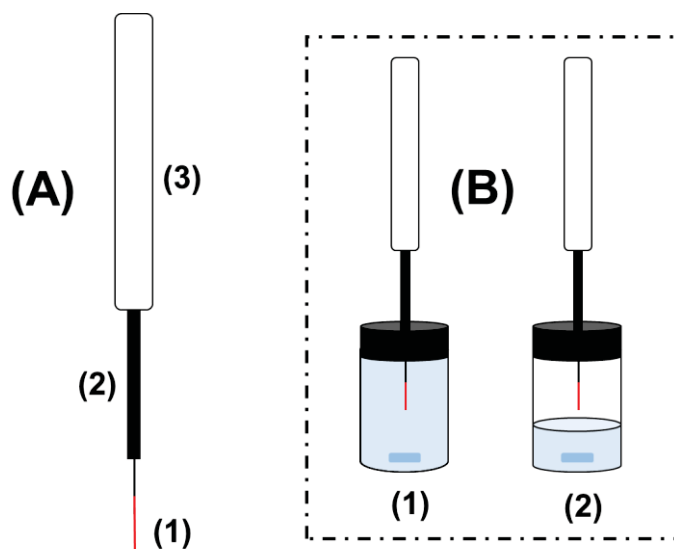
2.1 INTRODUÇÃO

2.1.1 Microextração em Fase Sólida (SPME)

Nos últimos anos, as recentes técnicas miniaturizadas de preparo de amostras têm ganhado destaque frente aos métodos convencionais, pois minimizam o volume da amostra e o consumo de solventes orgânicos, permitem a reutilização das fases extratoras, a pré-concentração dos analitos, além de possibilitar o acoplamento em linha (automação) com sistemas cromatográficos, resultando em rápido processo operacional, com alta precisão analítica e baixos limites de quantificação.

A SPME utiliza um dispositivo semelhante a uma seringa contendo uma fibra de sílica fundida recoberta com uma fase extratora polimérica ou um sólido adsorvente, onde os solutos são diretamente extraídos da amostra para o recobrimento da fibra, na FIGURA 2.1(A). Consiste de um processo baseado no equilíbrio de partição entre as fases: aquosa (amostra homogênea), polimérica extratora (fibra) e gasosa. Durante a extração em um sistema trifásico considerado ideal, os analitos migram entre as três fases até que o equilíbrio de partição seja atingido. Dessa forma, a massa extraída do analito pela fibra está relacionada ao equilíbrio de massas nas fases do sistema. A quantidade de analito absorvido ou adsorvido pela fibra está linearmente relacionada com a concentração inicial do analito na amostra, permitindo assim, a análise quantitativa (PAWLISZYN, 2000). A extração pode ser realizada pela exposição da fibra diretamente na amostra, ou na fase gasosa (*headspace*), na FIGURA 2.1 (B).

FIGURA 2.1 - (A) DISPOSITIVO COMERCIAL PARA SPME E (B) REPRESENTAÇÃO DOS MODOS DE EXTRAÇÃO



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: 1(A) Fibra extratora.
2(A) Agulha de aço.
3(A) Corpo do aplicador.
1(B) SPME modo direto.
2(B) SPME modo headspace.

A técnica SPME acoplada à cromatografia gasosa (SPME-GC), inicialmente desenvolvida para a análise de poluentes em amostras de água (RODRIGUES, LACERDA, LANÇAS, 2002; SOUZA, LANÇAS, 2003), tem sido também empregada com êxito na extração de analitos menos voláteis ou termicamente instáveis analisados após processos de derivatização/SPME-GC ou empregando a técnica SPME acoplada à cromatografia líquida (SPME-LC). O acoplamento da SPME com a LC tem sido realizado com auxílio de uma interface ou através de dessorção *off-line*, o qual utiliza pequena quantidade de solvente orgânico ou fase móvel e não necessita de uma interface apropriada.

Algumas poucas fases extratoras, de diferentes espessuras de filme polimérico (entre 7 e 100 μm), estão disponíveis no comércio para as análises SPME: filmes de polidimetilsiloxano (PDMS) e poliacrilato (PA), além de revestimentos mistos, como polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB), carbowaxTM-divinilbenzeno (CW-DVB), carbowaxTM/resina TPR-100 suportada (CW-TR) e carboxen[®].

Por algum tempo o principal alvo das pesquisas em termos de técnicas miniaturizadas de preparo de amostras foi a busca de automação das análises,

via microextração em fase sólida em tubo capilar (do inglês *in-tube* SPME) (SILVA, LANÇAS, QUEIROZ, 2009) ou por meio de acoplamentos em linha com os sistemas cromatográficos (GC e LC) e eletroforese capilar. Acreditando em um suficiente desenvolvimento nesta vertente, atualmente, a maioria dos estudos com relação ao progresso das técnicas de microextração está focada na avaliação de novas tecnologias para o desenvolvimento de fases extratoras.

Como apresentado anteriormente, algumas fases extratoras estão disponíveis no comércio para as análises por SPME. Porém, o desenvolvimento de novas fases extratoras mais seletivas, estáveis e de baixo custo, tem sido necessário para o desenvolvimento destas técnicas, buscando uma maior gama de aplicações e métodos com sensibilidade analítica adequada para as determinações de contaminantes diversos em amostras complexas. Neste contexto, novos materiais, tais como: polímeros condutores (BAGHERI, AYAZI, NADERI, 2013; SILVA, LANÇAS, QUEIROZ, 2009), materiais de acesso restrito (RAMs) (MUSTEATA, PAWLISZYN, 2005), nanomateriais (LIU, SHI, JIANG, 2012; MEHDINIA, AZIZ-ZANJANI, 2013), polímeros molecularmente impressos (MIPs) (MARTÍN-ESTEBAN, 2013; MUSTEATA, MUSTEATA, PAWLISZYN, 2007), imunosorventes (LIU, WANG, GUAN, 2004), entre outros, têm sido avaliados.

2.1.2 Polímeros Condutores como Novas Fases Extratoras

Os polímeros condutores são materiais versáteis, ou seja, de acordo com o modo de preparo, apresentam diferentes interações com o analito durante processo de extração, tais como: interações hidrofóbicas, ácido-base e π - π , além de permitirem a adição de contra-íons ou de grupos funcionais ao monômero, que favorecem a seletividade para extração dos analitos na matriz (CHO et al., 2003; WU, PAWLISZYN, 2001; WU, PAWLISZYN, 2004).

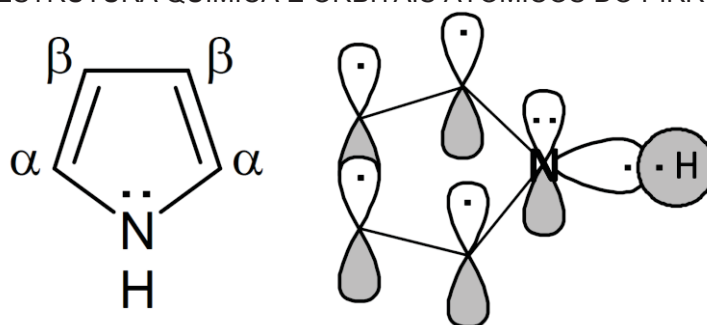
Baseado nessas propriedades, os polímeros condutores têm sido avaliados, não somente como sensores químicos e dispositivos eletrônicos, mas também como fase extratora para técnicas de extração, especialmente empregando os polímeros como o polipirrol (PPy) (LIM, SONG, KIM, 2012; SZULTKA et al., 2010), a polianilina (PANI) (DU, ZHAO, ZENG, 2009; MÜLLER et

al., 2011) e o politiofeno (PTh) (CARIS, CHAVES, QUEIROZ, 2012; LI et al., 2008).

O PPy e seus derivados, tem sido um dos polímeros mais amplamente estudados nos últimos anos, devido a algumas vantagens adicionais, tais como facilidade de polimerização em pH neutro por métodos eletroquímicos e químicos, relativa estabilidade química no seu estado oxidado em solução com valores de pH não extremos e em fase gasosa, além do fato do monômero pirrol e alguns de seus derivados estarem disponíveis no mercado a custo acessível (AZIZ-ZANJANI, MEHDINIA, 2013).

O polipirrol é um composto formado por monômeros de pirrol (Py), com fórmula molecular C_4H_4NH que apresenta uma estrutura heterocíclica de cinco átomos, cujo heteroátomo é o nitrogênio e as insaturações estão situadas entre os dois carbonos α e β , respectivamente. Possui aromaticidade, 6 elétrons π sendo que o par de elétrons do nitrogênio faz parte da nuvem π , hibridização sp^2 e estrutura planar, FIGURA 2.2 (HARREUS, 2000).

FIGURA 2.2 - ESTRUTURA QUÍMICA E ORBITAIS ATÔMICOS DO PIRROL (Py)



FONTE: A autora (2018).

O polipirrol pode ser sintetizado via polimerização química ou eletroquímica. Na polimerização química um agente oxidante é introduzido no meio reacional de maneira a formar os radicais catiônicos. É preciso que o agente oxidante tenha um potencial de redução suficiente para que ocorra a oxidação do monômero (RAMÍREZ-GARCÍA et al., 2008).

Na síntese via eletroquímica (eletropolimerização) a oxidação do polímero ocorre mediante a aplicação de uma diferença de potencial na célula eletroquímica com a incorporação de contra-íons, para neutralizar a carga. Os filmes produzidos possuem maior controle da espessura pela variação de alguns parâmetros, como densidade de corrente, potencial aplicado e concentração do

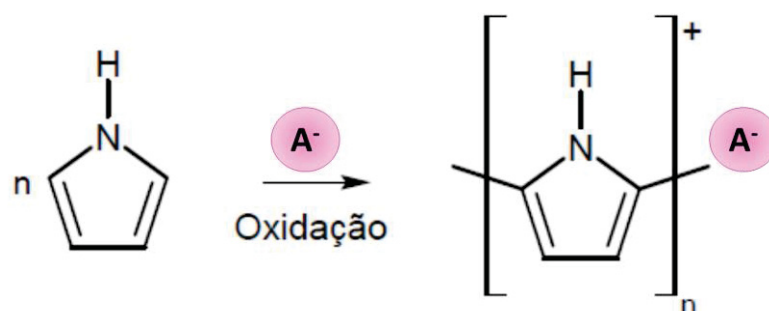
monômero, e podem ainda ser inseridos grupos funcionais na estrutura do filme, conferindo uma maior seletividade ao material (SARAJI et al., 2013). A síntese é considerada simples e rápida, passível de ser realizada em soluções aquosas com ampla faixa de pH, sobre a superfície de diversos materiais, originando o polímero com satisfatória estabilidade em condições ambiente (MAKSYMIUK, 2006). Devido ao potencial aplicado, praticamente todos os monômeros em torno do eletrodo são oxidados, resultando numa grande densidade de radicais catiônicos.

Os radicais catiônicos têm grande probabilidade de se acoplar, formando um dímero dicatiônico a partir de dois radicais catiônicos. Por meio de uma transferência de carga, o dímero dicatiônico libera dois prótons (H^+) tornando-se um dímero neutro. Como o potencial de oxidação do dímero neutro é menor que o potencial de oxidação do monômero, o dímero se oxida facilmente e reage com um radical catiônico do monômero, formando um trímero dicatiônico; da mesma forma o sistema libera mais dois prótons e se estabiliza formando um trímero neutro. O processo segue nessa sequência, oxidação, acoplamento e liberação de prótons, até que as cadeias poliméricas se tornem insolúveis e precipitem-se sobre a superfície do eletrodo (BRUCE, 1997).

Em seguida, o polipirrol inicialmente formado pode ser oxidado novamente a fim de formar uma estrutura poliradical catiônica que atrai eletrostaticamente ânions presentes na solução de polimerização para o interior da cadeia polimérica oxidada, obtendo desta forma o filme de polipirrol, FIGURA 2.3 (MAKSYMIUK, 2006). O fato da cadeia polimérica final não se encontrar na forma neutra (não houve a liberação de prótons após o último acoplamento) faz com que o contra-íon seja incorporado ao polímero, tornando-o neutro.

Essa associação entre os cátions do polímero e os íons dopantes depende das condições eletroquímicas utilizadas durante o período de eletropolimerização (SABAH, AGHAMOHAMMADI, ALIZADEH, 2006).

FIGURA 2.3 - REAÇÃO DE OXIDAÇÃO SIMPLIFICADA DO PIRROL (Py)



FONTE: A autora (2018).

Medidas de Espalhamento Rutherford em ângulos traseiros (RBS) em filmes de PPy eletropolimerizados em solução aquosa demonstram que a eficiência do processo de eletropolimerização depende do eletrólito suporte utilizado. No trabalho de Bredas e Street, por exemplo, quanto menor o tamanho do ânion, menor a eficiência de eletropolimerização. Utilizando eletrólitos aquosos à base de NaClO_4 , a eficiência é da ordem de 67% (BREDAS, STREET, 1985). Foi observado também que a eficiência do processo de formação do PPy independe do tipo de solvente utilizado (água ou acetonitrila) (M. KO et al., 1990).

A capacidade de filmes de polipirrol em incorporar ânions permitiu o desenvolvimento de eletrodos dopados para determinações potenciométricas de diversas espécies inorgânicas, tais como nitrato, cloreto, iodeto, dentre outros (BENDIKOV, KIM, HARMON, 2005; ŞAHIN, ŞAHIN, ÖZCAN, 2008). Assim, as moléculas utilizadas na dopagem do eletrodo atuam como um modelo durante a formação do filme, tornando o sensor seletivo para o analito em questão (TONELLI et al., 2011).

Para a determinação de espécies orgânicas, pode-se utilizar um eletrodo de trabalho recoberto com filme de polipirrol como fase extratora (SPME com controle eletroquímico). Quando um potencial negativo é aplicado, o filme fica carregado negativamente, forma-se um campo elétrico e os analitos carregados positivamente são atraídos para a superfície do eletrodo e ficam aprisionados devido à atração das cargas opostas. De maneira análoga, pode ser também aplicado um potencial positivo com a finalidade de extrair seletivamente analitos carregados negativamente. Desta forma, o fato do polipirrol ser um polímero condutor, apresentar a capacidade de adsorver moléculas e a possibilidade de ser dopado com contra-íons (CHEN et al., 2010; LIU et al., 2012), torna-o um

promissor polímero para ser utilizado no recobrimento de fibras SPME para a extração com controle eletroquímico.

Nesse modo de extração, o potencial aplicado tem papel fundamental na eficiência de extração (taxas de recuperação), pois o processo estará associado não somente à atração eletrostática entre a carga positiva dispersa no polímero e os analitos de cargas opostas, mas aos potenciais aplicados para maximizar esta interação. Outros parâmetros que terão influência no processo são: tempo de extração, pH, agitação e força iônica, que deverão ser otimizados.

Diferentes métodos eletroquímicos podem ser empregados para realizar o preparo dos filmes de polipirrol por eletropolimerização, tais como, os métodos potencioestático, potenciodinâmico e galvanostático. No método potencioestático, aplica-se um potencial fixo ao eletrodo de trabalho em relação ao eletrodo de referência, ou aumenta-se gradualmente o potencial em intervalos de tempo regulares, e mede-se a corrente entre os eletrodos de trabalho e auxiliar (aplicação de um potencial constante). No método potenciodinâmico, varia-se de maneira contínua o potencial entre os eletrodos de trabalho e referência e mede-se a corrente entre os eletrodos de trabalho e auxiliar (varredura de potencial em ciclos múltiplos à velocidade controlada). No método galvanostático, aplica-se corrente constante entre os eletrodos de trabalho e auxiliar, medindo-se o valor de tensão entre os eletrodos de trabalho e referência em função do tempo (passagem de uma corrente constante) (DEL VALLE et al., 2008; GIESSE, DE PAOLI, 1989).

Na maioria dos trabalhos encontrados na literatura o filme de PPy é obtido por eletropolimerização e após o processo de extração é realizada a etapa de dessorção dos analitos do filme de PPy diretamente no injetor de um cromatógrafo ou através da adição de um solvente orgânico para posterior análise cromatográfica (CHAVES, CHIERICATO JÚNIOR, QUEIROZ, 2009; CHEN, 2010; LIU, 2012).

No entanto, outra hipótese possível para utilizar o polipirrol para a etapa de preparo de amostras, seria dessorver os analitos seria por via eletroquímica, utilizando aplicação de potenciais. Quando são aplicados potenciais negativos, ocorre a dessorção dos analitos aniônicos e aplicando-se potenciais positivos, são dessorvidos os compostos catiônicos. Desta forma, não haveria a necessidade da interface especial para o sistema de cromatografia e evita-se o uso de solventes

orgânicos na etapa de dessorção. Nesse modo de sorção, o potencial aplicado tem papel fundamental na eficiência de extração e dessorção (taxas de recuperação), pois o processo estará associado não somente à atração eletrostática entre a carga positiva dispersa no polímero e os analitos de cargas opostas, mas aos potenciais aplicados para maximizar esta interação.

Um método de extração baseado de PPy-SPME foi desenvolvido por Abdolhosseini e colaboradores. O dispositivo baseou-se no recobrimento de uma fibra de aço por eletropolimerização *in situ* de PPy, sendo esta aplicada em amostras biológicas para determinação de nicotina por HS-SPME ("headspace-SPME") seguida por análise por cromatografia gasosa e detecção por ionização em chama (GC-FID). Como principais resultados, os autores sinalizaram a faixa linear entre 0,1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, LOD obtido 20 ng mL^{-1} e desvio padrão relativo (RSD, $n = 6$) de 7,6% (ABDOLHOSSEINI, GHIAVAND, HEIDARI, 2017).

Chaves e colaboradores também desenvolveram uma fase de PPy para SPME para determinação de antidepressivos em plasma humano utilizando LC-UV. O filme de PPy foi eletrodepositado na superfície de uma barra de aço inoxidável utilizando voltametria cíclica. As condições da eletrodeposição foram intervalo de potenciais de 0 a 1,2 V, velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} , eletrólito suporte de LiClO_4 em acetonitrila, e realizando 100 ciclos voltamétricos. Os valores de LOQ variaram de 16 a 25 ng mL^{-1} . A precisão interdia do método SPME-PPy/LC-UV apresentou $\text{RSD} < 15\%$ (CHAVES, CHIERICATO JÚNIOR, QUEIROZ, 2009).

Melo e colaboradores desenvolveram um novo revestimento de SBSE (extração sortiva em barra de agitação) com polidimetilsiloxano (PDMS) e PPy para extração de 6 antidepressivos em plasma humano e determinação por cromatografia líquida e detecção espectrofotométrica na região ultravioleta (LC-UV). Entre as extrações, a barra extratora de 1,4 cm passou por etapa de limpeza onde foi usada uma mistura de água e metanol (70:30 v/v) por 5 min a 40 °C. Neste trabalho foram obtidos LOQ entre 20 ng mL^{-1} a 50 ng mL^{-1} , intervalo linear do LOQ a 500 ng mL^{-1} e precisão interdia inferior a $\text{RSD} = 15\%$ (MELO et al., 2009).

Ahmadi e colaboradores desenvolveram um dispositivo *in-tube* SPME utilizando modificação com controle eletroquímico de PPy na superfície interna de um tubo de aço inoxidável, sendo este acoplado *on-line* ao HPLC-UV, através da

substituição da alça de amostragem do injetor automático do HPLC pelo dispositivo proposto. Para a eletrossíntese, o próprio tubo de aço inox foi o eletrodo de trabalho e foi utilizado um contra eletrodo de fio de cobre. Foi utilizado soluções de Py e LiClO_4 sendo aplicada uma corrente constante de 3 mA por 300 s. Para eletroextração de naproxeno em urina, 15 mL de amostra foram passadas pelo *in-tube* SPME com PPy e aplicado um potencial. Após foi lavado com 1,0 mL de água para evitar contaminação e em seguida a dessorção estática com 1,0 mL da solução tampão 10 mmol (pH de 3) e acetonitrila (50:50, v/v), e separação em coluna de C_{18} sendo obtido faixa linear de 0,5-1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOD de 0,07 $\mu\text{g L}^{-1}$ e RSD 6,3 % (AHMADI, MANBOHI, HEYDAR, 2015).

Silva e colaboradores desenvolveram um sistema *in-tube* SPME utilizando um capilar de sílica fundida (60 cm de comprimento, 0,25 mm i.d.) modificado com polipirrol via polimerização química para determinação de enantiômeros de fluoxetina e norfluoxetina em amostras de plasma humano. O revestimento foi preparado primeiro percolando através do capilar uma solução de Py em isopropanol (50%, v/v) com N_2 , para formar uma fina camada de monômero na superfície interna e em seguida, foi percolado uma solução de perclorato férrico 0,2 mol L^{-1} em 0,4 mol L^{-1} ácido perclórico para formar a camada de PPy no capilar (repetido 6 vezes). Os LOQs foram de 10 ng mL^{-1} para R- e S-fluoxetina e 15 ng mL^{-1} para R e S-norfluoxetina, com um RSD < 13% (SILVA, LANÇAS, QUEIROZ, 2009).

Florez e colaboradores desenvolveram um dispositivo para extração em fase sólida com ponta de pipeta utilizando como sorvente PPy (PT-PPy-SPE) para determinação de avermectinas e milbemicidas em leite por HPLC-UV (FLOREZ et al., 2018). O método apresentou recuperações acima de 96% e LOQ 20 ng L^{-1} e precisão e exatidão nos intra e interensaios RSD (n = 6) menores que 15% para os 4 compostos.

Pinsrithong e Bunkoed desenvolveram um compósito de polipirrol poroso nanoestruturado para extração, por d-SPE magnética, de ftalatos em águas engarrafadas e bebidas para determinação por GC-MS/MS. Para preparação do compósito poroso nanoestruturado sequencial - “microesferas de hidrogel PPy-rGOx- Fe_3O_4 ” - foi utilizado nanopartículas de magnetita previamente sintetizadas; após foi sintetizado o compósito de microesferas de hidrogel utilizando essas nanopartículas de magnetita com adição de óxido de grafeno, carbonato de

cálcio, alginato de sódio e cloreto de cálcio. O óxido de grafeno foi reduzido a grafeno com adição de ácido ascórbico, formando o compósito de microesferas de hidrogel de alginato e grafeno reduzido (rGOx-Fe₃O₄-CaCO₃). Finalmente para o preparo dos compósitos nanoestruturados porosos sequenciais, foi adicionado HCl nas microesferas de hidrogel rGOx-Fe₃O₄-CaCO₃, liberando bolhas de CO₂ (proveniente do CaCO₃) que criaram poros nas microesferas e posteriormente foi incorporado polipirrol na estrutura (2-propanol + pirrol + cloreto de ferro) formando as microesferas de hidrogel PPy-rGOx-Fe₃O₄ nanoestruturadas e porosas. Foram obtidos baixos limites de detecção em uma ampla faixa de linear (0,005 a 500 µg L⁻¹), recuperações entre 87,5 e 99,1% (PINSRITHONG, BUNKOED, 2018).

Deve-se destacar que alguns parâmetros têm influência no processo de extração via PPy, interferindo na eficiência de extração da fase avaliada, e, portanto, devem ser considerados independentemente do modo de extração: tempo e temperatura de extração, pH, agitação e força iônica, além do volume de amostra e solvente, e volume de dessorção.

Como exposto nos exemplos supracitados, nos últimos anos tem ocorrido um grande progresso no desenvolvimento de técnicas analíticas capazes de determinar multirresíduos, em nível traço, presentes em matrizes complexas. A aplicação de tecnologias avançadas, como a cromatografia em fase líquida ou gasosa acoplada à espectrometria de massas, em análises ambientais tem permitido a determinação de uma ampla gama de compostos e possibilitado uma avaliação mais abrangente dos contaminantes ambientais.

Neste capítulo (CAPÍTULO 2) duas estratégias foram investigadas: uma haste de aço inox foi utilizada como suporte para eletrodeposição de polipirrol SSR-PPy-SPME e foi utilizada como extrator de contaminantes de preocupação emergente, utilizando potenciais positivos e negativos para adsorção e dessorção dos analitos e outro dispositivo extrator, em formato de disco SSM-PPy-SPE, utilizando como suporte, para deposição de filmes de polipirrol, tela de aço inox de 400 *mesh*, foi utilizado para sorção de contaminantes de preocupação emergente em água. A modificação da tela foi feita por polimerização via química e eletroquímica.

2.2 OJETIVOS

2.2.1 Objetivo Geral

Avaliar novos dispositivos de extração, simples e de baixo custo, baseado em polímeros condutores, como o polipirrol (PPy), para sorção e posterior determinação de contaminantes de preocupação emergente (CECs) em amostras de água por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

2.2.2 Objetivos Específicos

a) *SSR-PPy-SPME*

- Construir um dispositivo SSR-PPy-SPME, utilizando uma haste de aço inox para polimerização via eletroquímica de polipirrol para extração de contaminantes de preocupação emergente utilizando três métodos eletroquímicos diferentes: galvanostático, potencioestático e potenciodinâmico;
- Otimizar a aplicação de potenciais para sorção dos contaminantes de preocupação emergente;
- Avaliar se é possível utilizar o PPy-SPME desenvolvido, nas condições de compromisso escolhidas, para ser utilizado como o extrator.

b) *SSM-PPy-SPE*

- Construir um dispositivo SSM-PPy, utilizando uma tela de aço inox para polimerização via química e eletroquímica de polipirrol para sorção de contaminantes de preocupação emergente;
- Caracterizar as telas de aço inox com os filmes de polipirrol polimerizados por via química e eletroquímica;
- Comparar os dois métodos de polimerização frente a melhor resposta de extração dos 14 CECs;
- Avaliar se é possível utilizar o SSM-PPy desenvolvido, nas condições de compromisso escolhidas, para ser utilizado como o extrator.

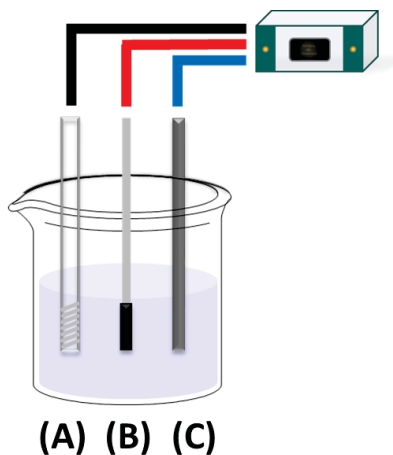
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Sistema Eletroquímico

Para formação dos filmes poliméricos, foi utilizado um Potenciostato/Galvanostato da Metrohm μ Autolab Type III com o *software* Nova 1.10 para aquisição dos dados. Utilizou-se uma célula eletroquímica com três eletrodos: eletrodo de trabalho de aço inox, pseudoeletrodo de prata como referência, contra eletrodo de platina (com área maior).

Foi utilizado como suporte para a eletrodeposição do polipirrol uma haste de aço inoxidável (aço 316), classificado como austenítico constituído por ferro, níquel (7 a 20% m/m) e cromo (17 a 25% m/m), os quais possibilitam trabalhar com temperaturas entre 0 a 925 °C. Para os estudos preliminares foi selecionado o comprimento de 2 cm da haste a ser eletropolimerizada, com área geométrica total utilizada para a eletrodeposição de 0,157 cm² conforme ilustrado na FIGURA 2.4.

FIGURA 2.4 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CÉLULA ELETROQUÍMICA UTILIZADA PARA ELETRODEPOSIÇÃO DE PPy EM HASTE DE AÇO INOX



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) macroeletrodo de platina.

(B) Eletrodo de trabalho (haste de aço inox).

(C) Pseudoeletrodo de prata.

Para outros experimentos foi utilizado eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho e como eletrodo de referência Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹) quando utilizado o meio eletrolítico aquoso.

Para a limpeza do eletrodo de trabalho (aço inox) para novas eletrodeposições, a haste foi polida com lixa fina com granulação de 400 *mesh*, lavada com dimetilformamida (DMF) e água destilada; e secos em estufa a 60 °C por 1 hora.

2.3.2 Métodos Eletroquímicos

Os métodos para eletrodeposição do filme de polipirrol avaliados foram o potenciodinâmico, galvanostático e o potencioestático. As condições utilizadas para a eletrodeposição do pirrol pelo método potenciodinâmico foram: varredura de potenciais entre de 0 a 1,0 V, com velocidade de 10 mV s⁻¹, 10 ciclos. Para o método galvanostático foram utilizadas diferentes densidades de correntes (*j*) e cargas (*Q*) na formação do filme de polipirrol. As condições utilizadas foram: densidade de corrente entre de 0,6 a 1,0 mA cm⁻², com carga variando de 50 a 400 mC cm⁻². Para o método potencioestático foi aplicado um potencial de 0,85 V por 30 s e 60 s.

Foram avaliados como eletrólitos suporte perclorato de sódio (ClO₄) 0,10 mol L⁻¹ e o dodecil sulfato de sódio (DS) 0,10 mol L⁻¹ em meio aquoso e também em meio orgânico (acetonitrila).

2.3.3 Estudo comparativo entre eletrodo de carbono vítreo e SSR-PPy

O método de eletrodeposição de polipirrol foi baseado na literatura (CHAVES, CHIERICATO JÚNIOR, QUEIROZ, 2009) utilizou-se método potenciodinâmico, nas condições de intervalo de potenciais de 0 a 1,0 V, utilizando 10,0 mL de perclorato de sódio 0,10 mol L⁻¹ em meio de acetonitrila (eletrólito suporte), velocidade de varredura 10 mV s⁻¹, 100 ciclos, utilizando como eletrodo de trabalho uma haste de aço inox 316 (área geométrica de 0,157 cm²) e pirrol na concentração de 0,10 mol L⁻¹. Os demais eletrodos utilizados foram pseudoeletrodo de pseudoreferência de fio de prata e contra de platina espiralado com área de aproximadamente 52,5 cm².

Para o estudo comparativo, usou-se então o eletrodo confeccionada nas condições acima descritas na presença de quatro representantes dos CECs em concentração de 1,0 mg L⁻¹ em célula eletroquímica contendo 10,0 mL de solução de acetato de sódio pH 7,0, utilizando eletrodo de trabalho de aço inox modificado

com polipirrol, eletrodo de referência Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e o contra de platina, voltametria cíclica utilizando intervalo de potenciais 0 a 1,2 V.

Utilizando-se um eletrodo de carbono vítreo (GCE) foi feito o mesmo estudo nas condições: triclosan, paracetamol, 4-nonilfenol, bisfenol A em concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em célula eletroquímica contendo 10,0 mL de solução de acetato de sódio pH 7,0, utilizando eletrodo de trabalho carbono vítreo, eletrodo de referência Ag/AgCl ($3,0 \text{ mol L}^{-1}$) e o contra de platina, voltametria cíclica utilizando intervalo de potenciais 0 a 1,2 V.

2.3.4 Método SSR-PPy-SPME

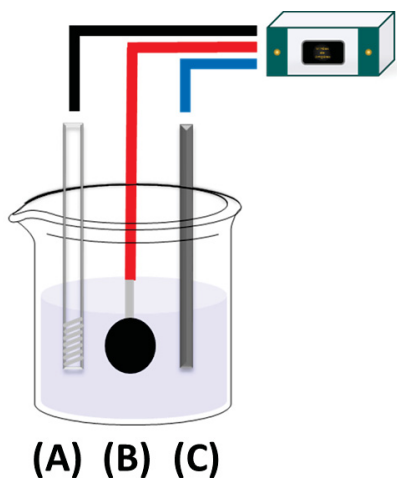
Foram feitos filmes de polipirrol pelo método potenciodinâmico utilizando intervalo de potenciais entre de 0 a 1,0 V, com velocidade de 10 mV s^{-1} , 10 ciclos, dopados com os contaminantes de preocupação emergente na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio orgânico. Foram feitos três SSR-PPy: somente um dos analitos (bisfenol A) nas mesmas condições descritas anteriormente; outro filme com 5 representantes das classes dos CECs (bisfenol A, 4-nonilfenol, paracetamol, triclosan e estrona) e um com a solução padrão contendo os 14 contaminantes estudados.

2.3.5 Método para Eletrodeposição em Tela de Aço Inox SSM-PPy-SPE

a) Via eletroquímica

O método de eletrodeposição do polipirrol foi o potenciodinâmico, nas condições de intervalo de potenciais de 0 a 1,0 V, utilizando 10,0 mL de perclorato de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em meio de acetonitrila (eletrólito suporte), velocidade de varredura 10 mV s^{-1} , 10 ciclos, utilizando como eletrodo de trabalho uma tela (400 mesh) de aço inox 316 de área de 25 mm para eletropolimerização do pirrol na concentração de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Os demais eletrodos utilizados foram pseudoeletrodo de referência fio de prata e contra de platina espiralado com área de aproximadamente $52,5 \text{ cm}^2$, conforme FIGURA 2.5.

FIGURA 2.5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CÉLULA ELETROQUÍMICA UTILIZADA PARA ELETRODEPOSIÇÃO DE PPy EM TELA DE AÇO INOX



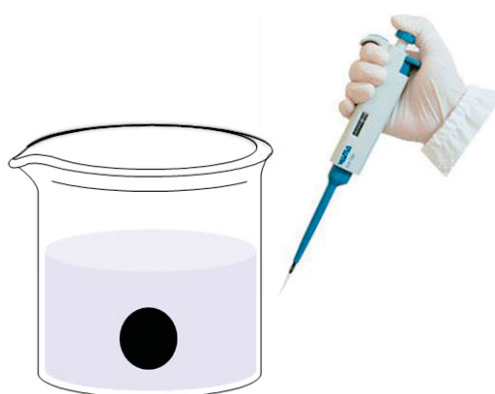
FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) macroeletrodo de platina.
(B) Eletrodo de trabalho (tela aço inox).
(C) Pseudoeletrodo de prata.

b) Via química

Na polimerização química os discos de tela de aço inox (400 mesh) foram imersos por 10 minutos em uma solução de pirrol $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e persulfato de amônio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, conforme representação da reação de polimerização na FIGURA 2.6.

FIGURA 2.6 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL VIA QUÍMICA UTILIZANDO TELA DE AÇO INOX COMO SUPORTE



FONTE: A autora (2018).

c) Caracterização dos discos modificados com polipirrol SSM-PPy

Para a análise por microscopia de varredura eletrônica (SEM) os discos de aço inox (modificados com PPy e prova em branco da tela de aço inox 316) foram acomodados em porta-amostra de alumínio com fita de cobre dupla face. Apesar de o polipirrol ser um material semicondutor, foi necessário fazer deposição de filme fino de ouro sob as superfícies das amostras, para melhorar a resolução das imagens. Foi utilizado um Microscópio TESCAN VEGA3 LMU com sistema de análise química tipo EDX (Oxford) com software AZ Tech (Advanced) e um metalizador marca Bal-Tec modelo SCD 050 Sputter Coater. As medidas foram realizadas no Centro de Microscopia da UFPR, sendo utilizado a mesma amostra para caracterização no SEM e para a análise química elementar semiquantitativa (EDX) das amostras.

d) Sorção dos CECs utilizando os discos modificados com polipirrol SSM-PPy

Os discos modificados com PPy foram alocados em um dispositivo de extração para SPE, um suporte de policarbonato (*holder*) para filtro reutilizável de 25 mm de diâmetro acoplável a seringa (capacidade da seringa de 20 mL, utilizada sem o embolo) para sorção dos 14 analitos. Para a etapa de extração, foi utilizado um sistema de *manifold* e percolou-se 100 mL de amostra dos contaminantes de preocupação emergente na concentração de 1 mg L⁻¹, utilizando uma vazão de $\approx 8 \text{ mL min}^{-1}$ e pH da amostra aquosa ≈ 5 . Para dessorção dos analitos foram utilizados 2 mL de metanol. As sorções foram realizadas a pressão atmosférica. Foi evaporado o solvente, procedida a etapa de derivatização (conforme CAPÍTULO 1, FIGURA 1.4) e injetado 1,0 μL do extrato final no sistema GC-MS (conforme programação CAPÍTULO 1, TABELA 1.6).

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Método SSR-PPy-SPME

O propósito inicial deste projeto foi a construção de um dispositivo a base de polipirrol (PPy-SPME) para extração de contaminantes de preocupação emergente com controle eletroquímico. Neste caso, potenciais são aplicados para promover a extração/dessorção dos analitos, eliminando a necessidade de uso de solventes orgânicos na etapa de dessorção e maximizando as interações eletrostáticas entre os analitos e a fase extratora, como apresentado na introdução desta tese.

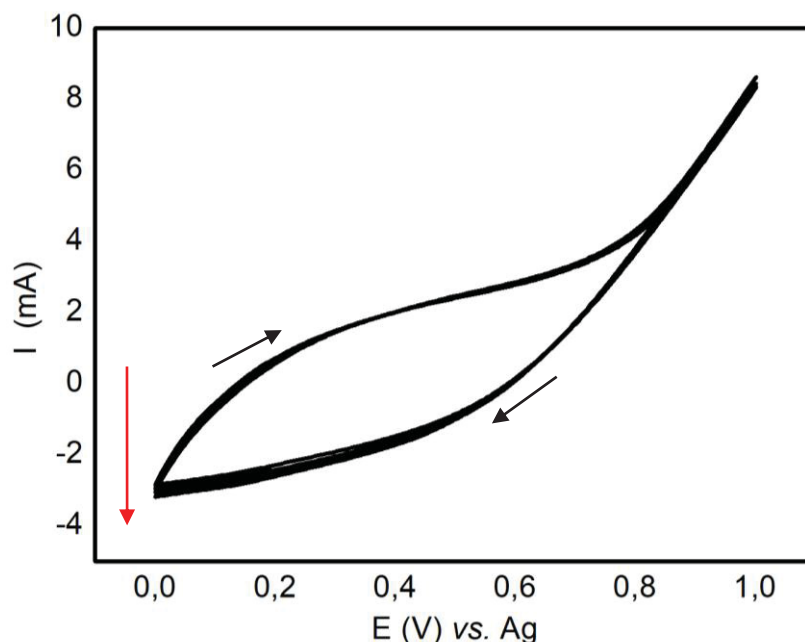
a) Métodos Eletroquímico para formação de filme de polipirrol

Foram avaliados três métodos para eletrodeposição do filme de polipirrol: potenciodinâmico, galvanostático e o potenciostático. A qualidade dos filmes formados utilizando os métodos galvanostático e o potenciostático não foram adequadas para a construção do dispositivo de extração, visto que, os filmes não permaneciam na haste (baixa aderência) para serem testados nos próximos estudos. Sabe-se dos efeitos dos contra-íons no desempenho do SPME de filmes de polipirrol. Dependendo, incorporando contra-íons apropriados nos polímeros, pode-se modificar as propriedades de extração dos revestimentos PPy. Como exemplo, utilizando-se o íon perclorato (PPy-ClO₄), é favorecido a propriedade de troca iônica e esse contra-íon tende a extrair moléculas mais polares se comparado com o íon dodecil (PPy-DS) que com o aumento da capacidade de interações hidrofóbicas tende a extrair moléculas menos polares (WU, PAWLISZYN, 2004). Por apresentar uma certa dificuldade de manipulação (formação de espuma no preparo do eletrólito suporte) e principalmente para evitar-se o processo de supressão de ionização no espectrômetro de massas (muitos picos de interferentes utilizando o DS), o que pode acarretar em diminuição das áreas dos picos cromatográficos, comprometendo futuramente a análise quantitativa, foi escolhido como contra-íon o perclorato (PPy-ClO₄), proveniente de uma solução de perclorato de sódio 0,10 mol L⁻¹. Filmes de

polipirrol em meio aquoso apresentaram maior fragilidade, além do que, dependendo das quantidades de ciclos a formação (por exemplo, maiores que 100 ciclos) não apresentaram visualmente homogeneidade nas mesmas condições de formação (baixa reprodutividade). Escolheu-se o meio orgânico (ACN) para utilizar como solvente dos eletrólitos por apresentarem filmes do polipirrol mais resistentes e visualmente mais homogêneos.

Então o método de eletrodeposição do polipirrol selecionado foi o potenciodinâmico, nas condições de intervalo de potenciais de 0 a 1,0 V, utilizando 10,0 mL de perclorato de sódio 0,10 mol L⁻¹ em meio de acetonitrila (eletrólito suporte), velocidade de varredura 10 mV s⁻¹, 10 ciclos, utilizando como eletrodo de trabalho uma haste de aço inox 316 (área geométrica de 0,157 cm²) para eletropolimerização do pirrol na concentração de 0,10 mol L⁻¹. Os demais eletrodos utilizados foram pseudoeletrodo de referência fio de prata e contra de platina espiralado com área de aproximadamente 52,5 cm², conforme perfil da FIGURA 2.7.

FIGURA 2.7 - VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DA ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE PIRROL 0,10 mol L⁻¹ NA PRESENÇA DE PERCLORATO DE SÓDIO 0,10 mol L⁻¹ EM HASTE DE AÇO INOX



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: → sentido do ciclo

↓ sentido do crescimento do filme

Esse perfil voltamétrico do polipirrol, utilizando como suporte aço inox 316, é característico desse material. Após vários ciclos de deposição, há um aumento

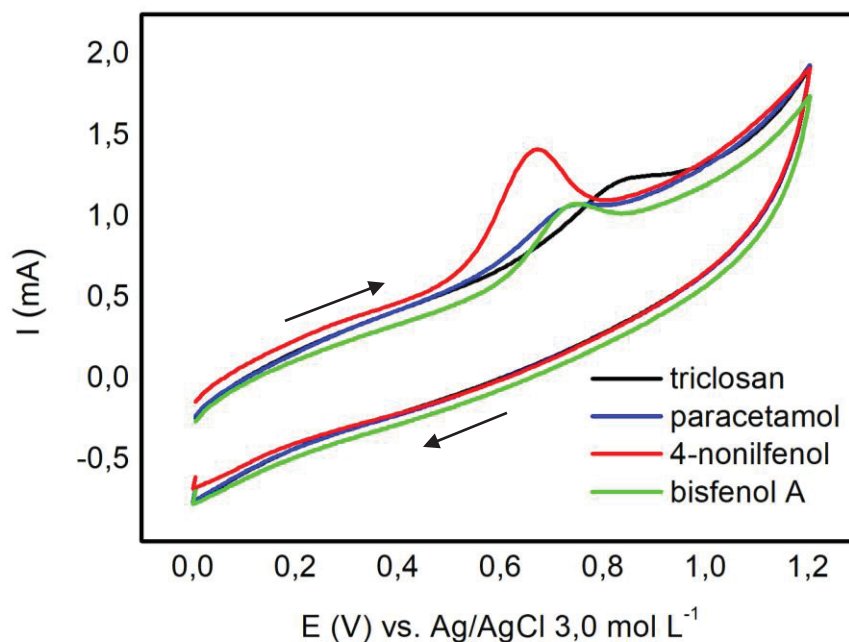
regular, podendo ser considerado insignificante, nas faixas de corrente anódicas e catódicas indicando uma excelente estabilidade cíclica o que sugere que esse material pode ser utilizado em aplicações para supercapacitores, ou seja, possui uma capacidade extraordinária de armazenamento de energia se comparado a um capacitor de mesmo tamanho (KHATI et al., 2016). Esse aumento pode ser atribuído a aumento da quantidade de deposição de filme no suporte cada vez que se é sucedido os ciclos (PATTANANUWAT, AHT-ONG, 2017). Esse perfil indica um comportamento capacitivo, isto é, a tensão resultante no circuito está atrasada em relação à corrente (baixa condutividade). A inclinação, FIGURA 2.7, indica propriedades resistivas e capacitivas envolvidas na formação do filme de polipirrol (XIE, DU, 2015).

b) Estudo comparativo de eletrodos

A fim de verificar a eletroatividade e as possíveis interações dos analitos frente aos eletrodos de trabalho selecionados (eletrodo de carbono vítreo e o de polipirrol construído nas condições do item (a)) foi feito esse estudo comparativo.

Utilizando como eletrodo de trabalho o eletrodo de carbono vítreo, pode-se notar na FIGURA 2.8, os picos do processo de oxidação de alguns analitos selecionados (triclosan, paracetamol, 4-nonilfenol e bisfenol A) para representar algumas das classes dos CECs. Os processos de oxidação desses 4 analitos estão entre o intervalo de potenciais 0,6 a 0,9 V.

FIGURA 2.8 - VOLTAMOGRAMAS DE ALGUNS CECs UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO (GCE)

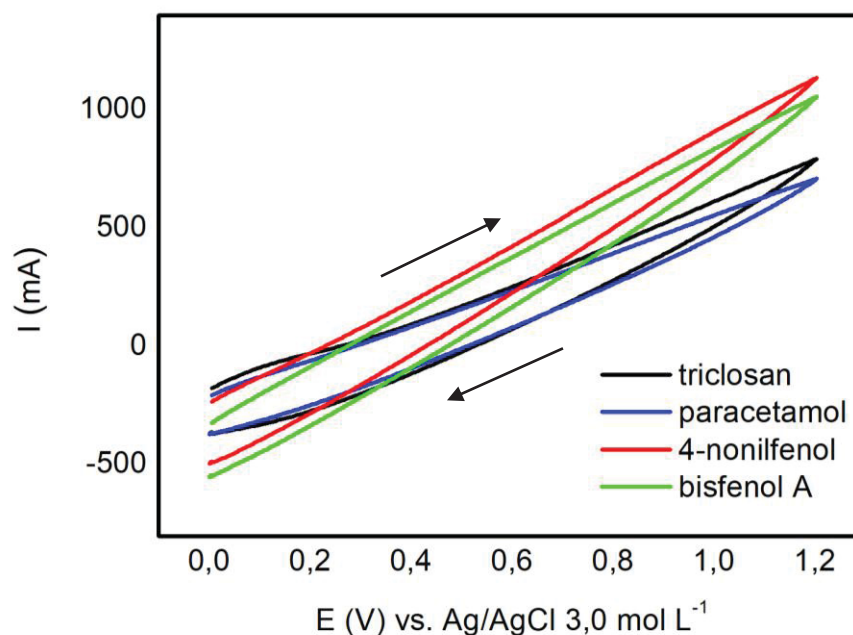


FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: → sentido do ciclo

No estudo utilizando-se o eletrodo de trabalho de aço inox 316 modificado com polipirrol sob as mesmas condições do teste com o eletrodo de carbono vítreo, não foi observado nenhum pico de processo de oxidação ou redução dos analitos. Além disso, notou-se que, apenas pela inclinação do voltamograma, em todos analitos testados, que seu perfil foi muito resistivo. O substrato utilizado para crescimento do filme (aço inox) e o polipirrol são condutores, o que não justificaria esse perfil tão resistivo. Provavelmente essa modificação acabou gerando um aumento na resistência de transferência de carga na interface eletrodo/eletrólito, ou seja, a qualidade do filme de polipirrol não está adequada para que se possa visualizar a ocorrência de processos redox dessas espécies eletroativas, conforme FIGURA 2.9.

FIGURA 2.9 - VOLTAMOGRAMAS DE ALGUNS CECs UTILIZANDO ELETRODO DE AÇO INOX MODIFICADO COM POLIPIRROL



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: → sentido do ciclo

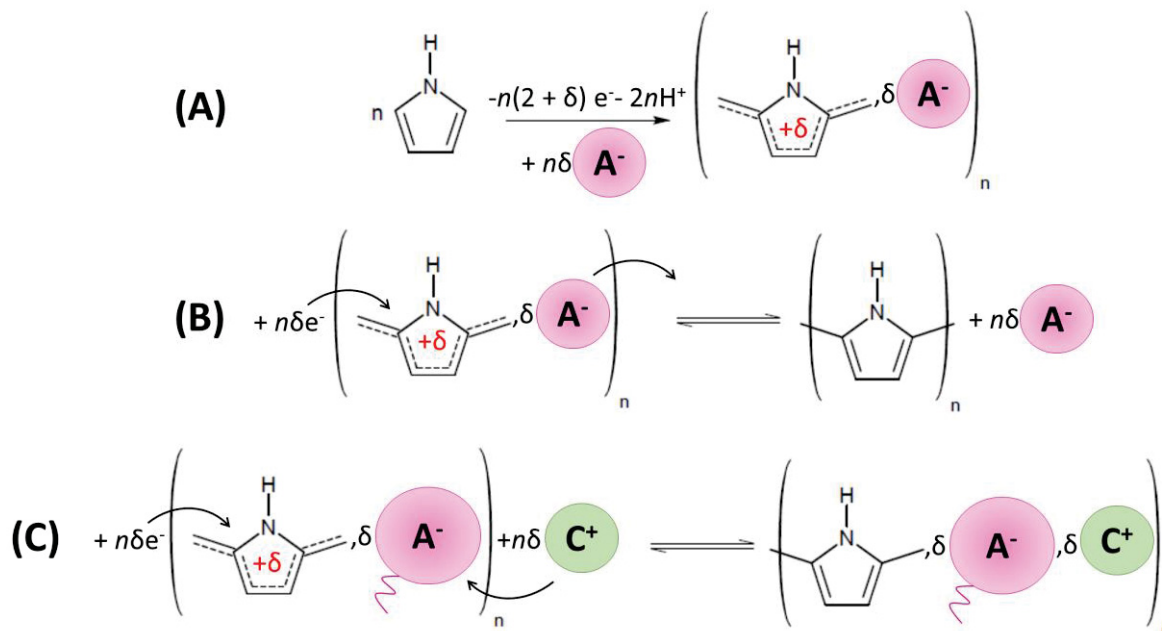
c) SSR-PPy-SPME

Não foi detectado nenhum sinal dos CECs nos filmes polimerizados na presença desses (PPy + CECs) o que sugere-se que os contaminantes de preocupação emergentes ficaram emaranhados ao filme polimérico durante a polimerização e mesmo com aplicação de potenciais não seriam passíveis de dessorção.

A funcionalização do polipirrol pela inclusão de dopantes específicos (FIGURA 2.10) é uma rota direta, uma vez que não necessita qualquer reação química específica, somente a escolha de uma espécie aniônica funcional (A) ou uma espécie catiônica (C). Pode ocorrer também a inclusão do agente dopante funcional presente no eletrólito durante eletropolimerização apenas por meio de imersão numa solução contendo o agente dopante funcional. De fato, a reação inversa, isto é, a retrodifusão do dopante funcional numa nova solução não pode ser evitada, mesmo quando se utiliza a liberação eletroquímica controlada de espécies (B). Um método utilizado para aumentar a proporção de unidades monoméricas de contra dopantes consiste no enxerto de uma carga positiva adicional na unidade de pirrol através de um alquilamônio substituinte. Por outro lado, o uso de um dopante volumoso (exemplo, um diâmetro superior a 5 a 6 Å),

durante a eletrodeposição permite uma troca quase irreversível, prendendo na matriz polimérica devido ao entrelaçamento das cadeias poliméricas em todo o contaminante (C) (BIDAN, 2010).

FIGURA 2.10 – MECANISMOS DE FUNCIONALIZAÇÃO POR DOPAGEM DO POLIPIRROL

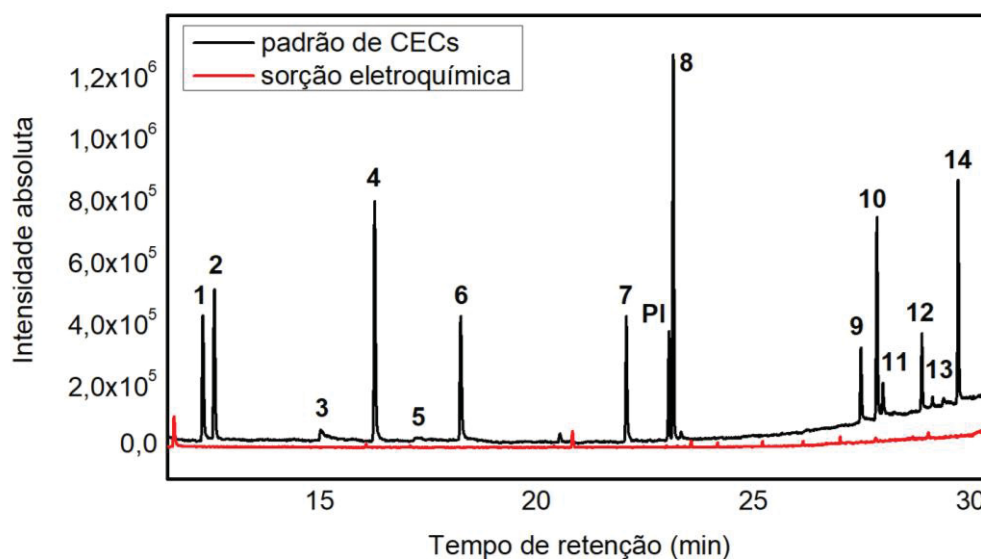


FONTE: Adaptado de (BIDAN, 2010).

LEGENDA: (A) eletrodeposição utilizando um dopante específico (A^-) aprisionado na estrutura polimérica. (B) dopante pequeno (A^-) são móveis e são expulsos durante a redopagem por eletroredução. (C) dopantes aniônicos volumosos enxertados estão imobilizados ($A^- \phi \geq 10 \text{ \AA}$) nas cadeias de emaranhados ioméricos. A redopagem resulta principalmente na entrada de um "pseudodopante" catiônico (C^+) e vice-versa durante a dopagem.

Os analitos estudados são considerados dopantes volumosos (por exemplo, comparado a um ânion como Cl^- com raio iônico de $1,67 \text{ \AA}$), sendo assim, o provável mecanismo de dopagem que ocorre entre estes e o polipirrol é o que não permite uma troca efetiva com o meio (quase irreversível) devido ao entrelaçamento das cadeias poliméricas com os CECs. Sendo assim, essa configuração de eletropolimerização do pirrol juntamente com os analitos não se mostrou promissora para ser utilizada como fibra extratora, justificando a não dessorção e detecção dos analitos quando utilizado o controle eletroquímico, conforme cromatogramas na FIGURA 2.11.

FIGURA 2.11 - CROMATOGRAMA DE 14 CECs (EM PRETO) *VERSUS* CROMATOGRAMA DE SORÇÃO DE CECs COM CONTROLE ELETROQUÍMICO (EM VERMELHO)



FONTE: A autora (2018).

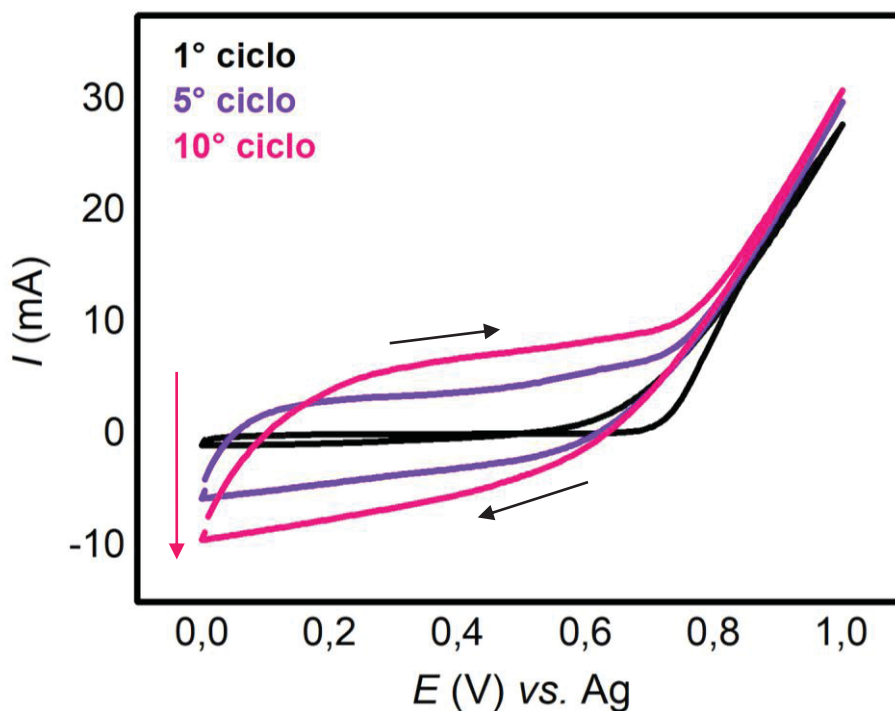
LEGENDA: (1) ibuprofeno.
(2) paracetamol.
(3) atrazina.
(4) 4-octilfenol.
(5) cafeína.
(6) 4-nonilfenol.
(7) triclosan.
(PI) bisfenol A-d₁₆.
(8) bisfenol A.
(9) estrona.
(10) β-estradiol.
(11) testosterona.
(12) 17α-etinilestradiol.
(13) progesterona.
(14) estriol.

2.4.2 Método SSM-PPy-SPE

a) Preparo das tela de aço inox modificada com polipirrol SSM-PPy

Na polimerização química os discos de tela de aço inox foram imersos por 10 minutos em uma solução de pirrol 0,1 mol L⁻¹ e persulfato de amônio 0,50 mol L⁻¹. Na eletropolimerização foi empregado voltametria cíclica (0 a 1,0 V), 100 ciclos, eletrodo de trabalho o disco de aço inox, pseudoreferência de prata e contra macroeletrodo de platina. Foi utilizado perclorato de sódio 0,1 mol L⁻¹ em acetonitrila como eletrólito suporte e pirrol 0,10 mol L⁻¹, conforme FIGURA 2.12.

FIGURA 2.12 - VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DA ELETROPOLIMERIZAÇÃO DE PIRROL 0,10 mol L⁻¹ EM TELA DE AÇO INOX



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: → sentido do ciclo

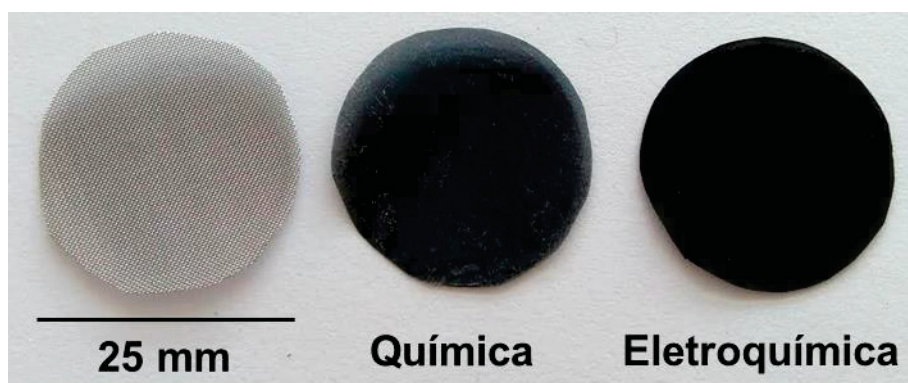
↓ sentido do crescimento do filme

NOTA: intervalo de potenciais de 0 a 1,0 V, velocidade de varredura 10 mV s⁻¹, meio orgânico (ACN) e 10 ciclos.

b) Caracterização das SSM-PPy

As telas de aço inox (*mesh* 400) modificadas com polipirrol estão apresentadas na FIGURA 2.13. Podemos perceber visualmente que houve modificação do polímero PPy nas telas (coloração escura). A tela modificada via química apresenta algumas manchas esbranquiçadas provenientes do agente oxidante empregado, persulfato de amônio (PSA). A tela modificada via eletroquímica para ser acomodada no *holder* utilizado para SPE em disco, logo após a eletrodeposição, retirou-se a haste que foi utilizada para fazer a conexão com o potenciostato.

FIGURA 2.13 - FOTOGRAFIAS DAS TELAS DE AÇO INOX (MESH 400)

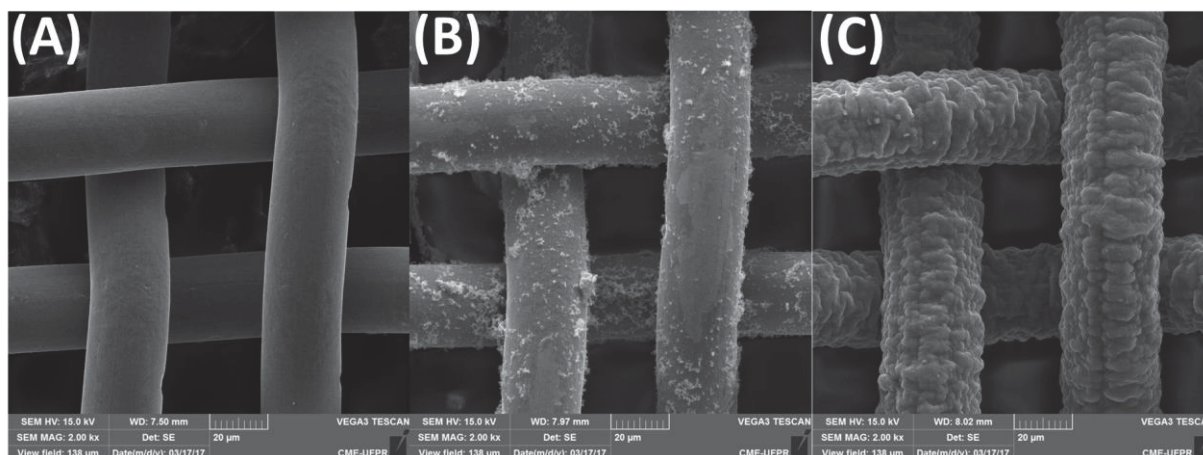


FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (da esquerda para direita): tela de aço inox sem filme de polipirrol, com filme de PPy via polimerização química e com filme de PPy via polimerização eletroquímica.

Os aspectos morfológicos das telas de aço inox com deposição de filme de PPy, com polimerização química e eletroquímica são mostradas nas micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM), FIGURA 2.14.

FIGURA 2.14 - MICROGRAFIAS DAS TELAS DE AÇO INOX (MESH 400)



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) tela de aço inox sem filme de polipirrol.
(B) com filme de PPy via polimerização química.
(C) com filme de PPy via polimerização eletroquímica.

Podemos constatar que a modificação via eletroquímica é mais organizada (C) e apresenta cobertura completa do suporte de aço inox do que a via química (B) que apresenta cobertura parcial e estruturas poliméricas entre as malhas dos fios. Através da análise química elementar (EDX) de um ponto das amostras podemos confirmar semiquantitativamente que a polimerização química não

recobre totalmente os fios de aço inox pela presença ferro e níquel ($\Sigma = 55,3\%$), conforme TABELA 2.1.

TABELA 2.1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA TELE DE AÇO INOX 316 COM POLIMERIZAÇÃO DE Py VIA QUÍMICA E ELETROQUÍMICA

Elemento Químico	SSM-PPy via Química (% do elemento)	SSM-PPy via Eletroquímica (% do elemento)
C	31,6	53,9
Cl	-	14,9
Fe	45,9	-
N	5,8	13,4
Na	-	1,2
Ni	9,4	-
O	5,4	16,5
S	1,2	-
Si	0,7	-
Total:	100,0	100,0

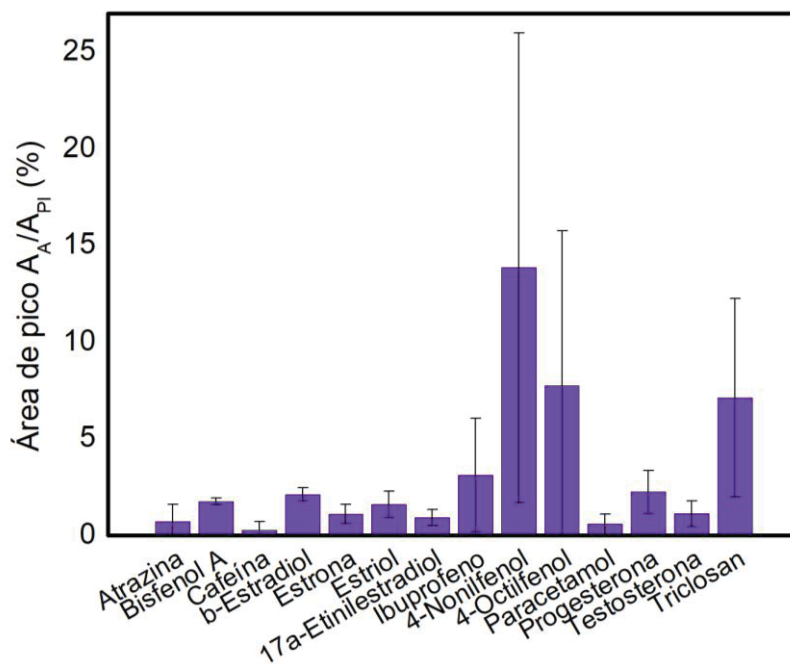
FONTE: A autora (2018).

Para a polimerização via química foi utilizado o persulfato de amônio como agente oxidante $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ e para a polimerização via eletroquímica foi utilizado como meio eletrolítico perclorato de sódio NaClO_4 o que justifica a diferença entre alguns elementos químicos que aparecem nas distintas polimerizações.

c) Método utilizando como extrator os discos SSM-PPy-SPE

O gráfico apresentado na FIGURA 2.15 apresenta as áreas médias dos picos cromatográficos para cada um dos contaminantes de preocupação emergente utilizando como extrator o disco de aço inox modificado com polipirrol via polimerização eletroquímica.

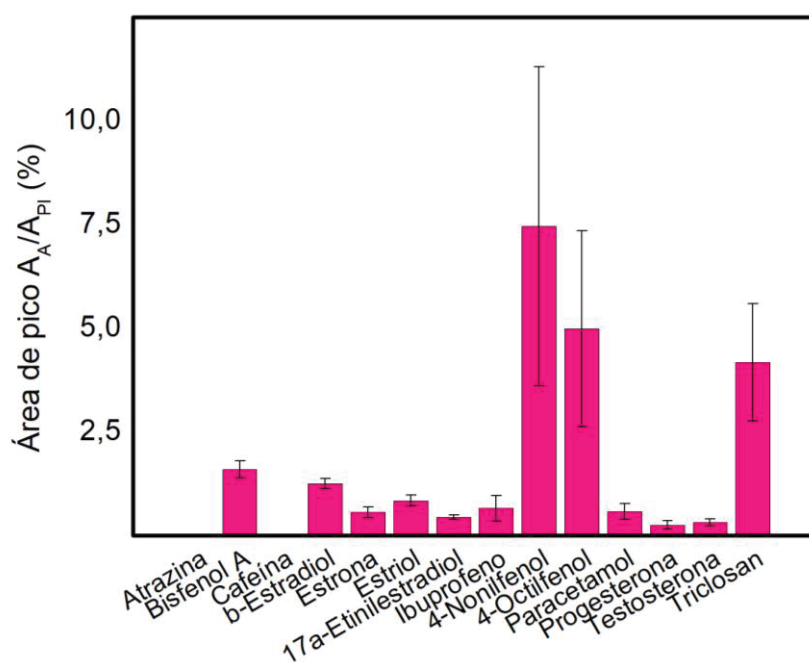
FIGURA 2.15 - ÁREAS DE PICOS DOS 14 CECs UTILIZANDO SSM-PPy-SPE VIA POLIMERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA



FONTE: A autora (2018).

O disco SSM-PPy via polimerização eletroquímica extraiu todos os 14 CECs mas se comparado ao SSM-PPy via polimerização química (FIGURA 2.16) apresentam menor sensibilidade e precisão.

FIGURA 2.16 - ÁREAS DE PICOS DOS 14 CECs UTILIZANDO SSM-PPy-SPE VIA POLIMERIZAÇÃO QUÍMICA

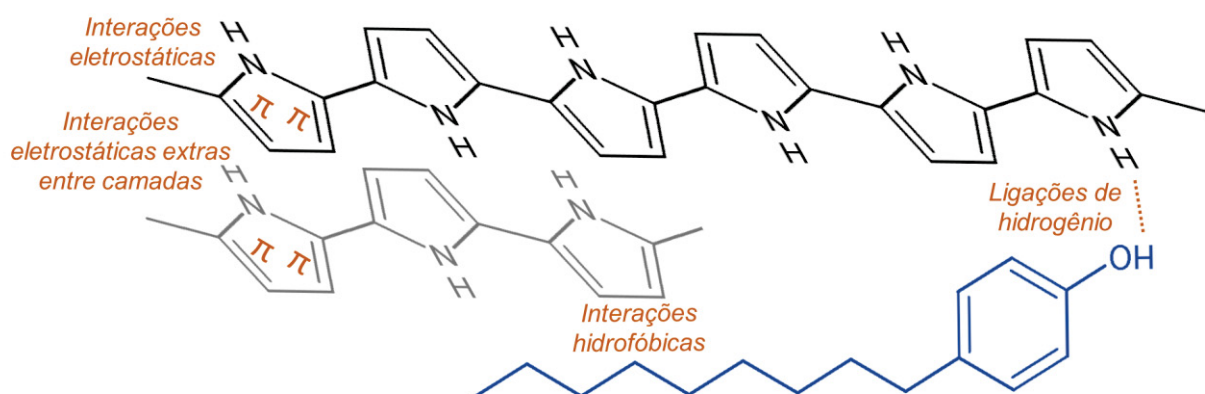


FONTE: A autora (2018).

Nos gráficos, nas FIGURAS 2.15 e 2.16, pôde ser comprovada a viabilidade do uso de ambos os dispositivos avaliados em termos de eficiência de extração. Para a maioria dos analitos, a intensidade do pico cromatográfico foi aumentada na mesma ordem do fator de pré-concentração, ou seja, próximo de 50 vezes mais intensos com relação áreas dos analitos provenientes da determinação sem etapa de pré-concentração, indicando alto poder de detectabilidade imposta pelo uso do disco de PPy. Pode-se perceber, que apesar da não homogeneidade do filme de polipirrol polimerizado quimicamente, este dispositivo foi o que apresentou maior desempenho para ser utilizado como extrator dos CECs.

O polipirrol apresenta diversas formas de interações e ligações com os analitos, como podemos observar na FIGURA 2.17.

FIGURA 2.17 - INTERAÇÕES DO POLIPIRROL COM OS ANALITOS



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: filme de PPy (em preto).
camadas sobrepostas de PPy (em cinza).
analito 4-nonilfenol (em azul).

Na FIGURA 2.17, um exemplo de contaminante de preocupação emergente (4-nonilfenol) e os possíveis mecanismos de interação com o polipirrol para extração dos mesmos. Há possibilidade de formação de ligação de hidrogênio com a parte hidrofílica (polar) e também uma interação hidrofóbica com a parte apolar da molécula (cadeia de carbonos). Há também possibilidade de interações eletroestáticas dos elétrons π do polímero e também entre as camadas do filme de polipirrol, explicando a versatilidade desse polímero ao extrair moléculas polares e apolares.

2.5 CONCLUSÃO PARCIAL

O primeiro dispositivo construído, SSR-PPy-SPME não teve aplicação como extrator, utilizando as condições descritas nesta tese, para ser utilizado no preparo de amostras.

Porém, sabendo que o polipirrol atua como excelente fase extratora para uma gama de compostos, como apresentado na introdução deste Capítulo, foi buscada uma nova configuração de dispositivo de extração que permitiria o uso eficiente deste material como fase extratora de compostos orgânicos. Desta maneira, o dispositivo de SPE em forma de discos modificados com PPy foi desenvolvido e avaliado com relação à sua eficiência de extração.

O preparo de amostras baseado na modificação dos discos utilizando tela de aço inox como suporte para deposição de filmes de PPy se mostrou simples e de baixo custo, sendo uma abordagem promissora para extração de contaminantes de preocupação emergente em matrizes aquosas, precisando ainda de otimizações para se tornar um método alternativo de preparo de amostras.

O SSM-PPy-SPE via polimerização química se mostrou com maior sensibilidade e precisão, do que o dispositivo via polimerização eletroquímica, podendo assim ser descartada a utilização de suporte de aço inox para deposição do filme de PPy, pois esse material só foi utilizado para que os potenciais pudessem ser aplicados, sendo possível a procura de um suporte mais barato para a polimerização química do pirrol.

CAPÍTULO 3

MEMBRANAS DE CELULOSE COMO SUBSTRATO PARA FILMES DE POLIPIRROL

3.1 INTRODUÇÃO

3.1.1 Extração em Fase Sólida (SPE)

O preparo de amostra é uma etapa crucial do processo analítico, onde é realizada, normalmente, a extração e pré-concentração dos analitos, bem como, a remoção de interferentes presentes na amostra. Nas últimas décadas, diversas técnicas de preparo de amostras foram desenvolvidas e avaliadas com o intuito de se obter procedimentos que consumissem menores volumes de solvente, tivessem alta seletividade, fossem rápidos e altamente automatizados. Exemplos de algumas das técnicas desenvolvidas são: a microextração em fase líquida (*Liquid Phase Microextraction* – LPME), a microextração em gota única (*Single Drop Microextraction* – SDME), a microextração em fase sólida (*Solid Phase Microextraction* – SPME), a extração sortiva em barra de agitação (*Stir Bar Sorptive Extraction* – SBSE) e a extração em fase sólida (*Solid Phase Extraction* – SPE). Sendo a última mais amplamente empregada na pré-concentração e *clean-up* de analitos presentes em amostras de água e efluentes, uma vez que supre algumas desvantagens apresentadas pela extração líquido-líquido (*Liquid-Liquid Extraction* - LLE), como um menor volume de solvente orgânico empregado. Além disso, devido à sua simplicidade, seletividade, possibilidade de automação e melhores limites de detecção em relação à LLE, tornou-se o método de preparo de amostra mais popular para a concentração de analitos e remoção de interferentes.

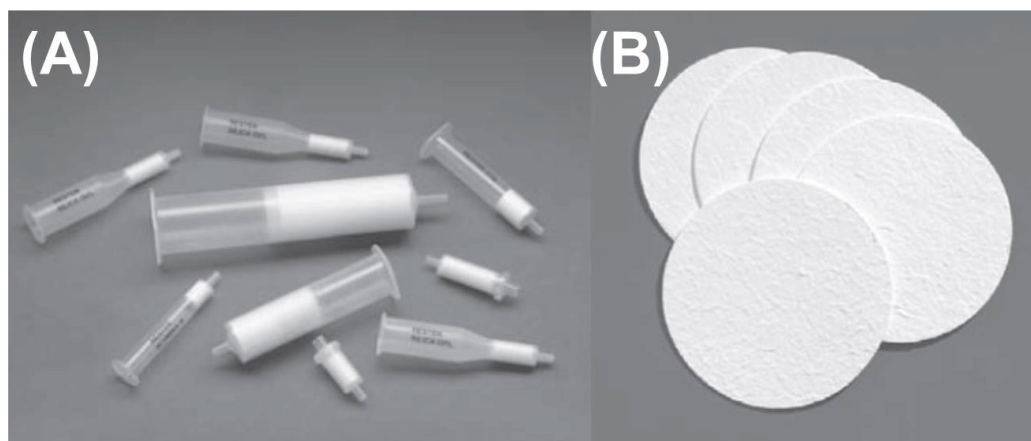
No início dos anos 80, a SPE tornou-se uma técnica de laboratório amplamente utilizada com a introdução de cartuchos descartáveis contendo sorventes quimicamente ligados à base de sílica de um tamanho adequado para o processamento de amostras por sucção suave.

Os mecanismos de separação envolvidos na SPE, tais como, adsorção (fase normal), partição (fase reversa), troca iônica e exclusão, são similares aos

da cromatografia líquida e são frequentemente empregados com o propósito de isolar compostos existentes em amostras complexas (JARDIM, 2010).

A escolha apropriada de dispositivos SPE irá depender das características da amostra e propriedades físico-químicas dos analitos. Na FIGURA 3.1 são apresentados os formatos mais utilizados em SPE.

FIGURA 3.1 – TIPOS DE FORMATO PARA SPE

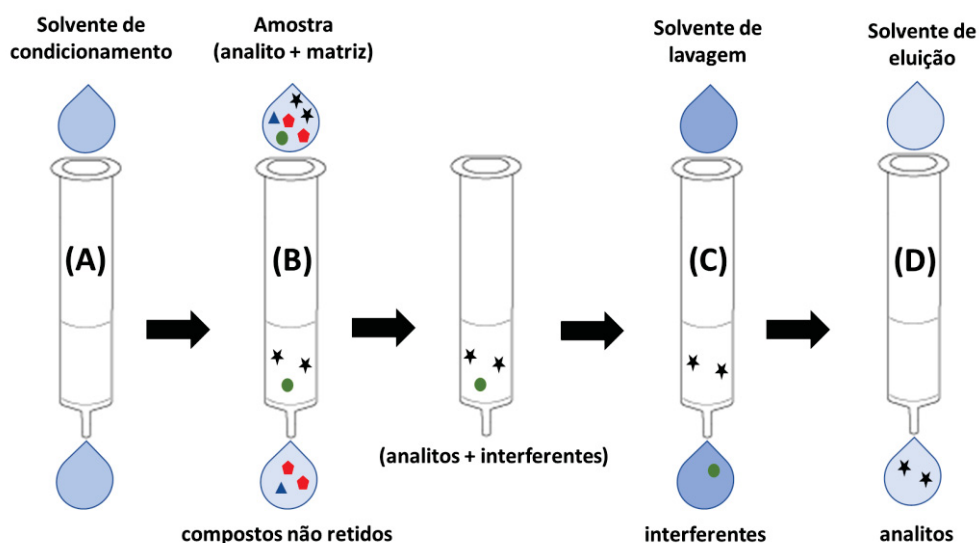


FONTE: Adaptado de Restek®.

O formato de cartucho é o mais popular dos dispositivos, com diversos volumes, com quantidades e tipos diferentes de sorventes (CALDAS et al., 2011). No formato de disco de extração, partículas ativas são imobilizadas em uma matriz inerte e estável, como por exemplo, microfibras de politetrafluoretileno ou vidro. A saber, um disco típico de SPE tem diâmetro de 47 mm e espessura de 0,5 mm, e apresenta como vantagens em comparação ao uso de cartuchos, a diminuição de caminhos preferenciais, existência de um leito mais homogêneo, maior velocidade de percolação e o uso de menores volumes de eluente na etapa de dessorção (ČESEN, HEATH, 2017; ERGER, SCHMIDT, 2014; JARDIM, 2010).

Em geral, os procedimentos de extração em fase sólida ocorrem em quatro etapas, conforme FIGURA 3.2.2: a) condicionamento da fase sorvente com solventes apropriados; b) extração dos compostos de interesse através da percolação da amostra pelo sorvente; c) remoção dos interferentes (*clean-up*); e d) eluição dos compostos de interesse com solvente orgânico.

FIGURA 3.2 – ETAPAS ENVOLVIDAS NA SPE



FONTE: Modificado de (ZWIR-FERENC, BIZIUK, 2006).

LEGENDA: (a) condicionamento da fase sólida.

(b) percolação da amostra.

(c) *clean-up*.

(d) eluição dos analitos.

Comercialmente, a fase sorvente mais clássica para análises ambientais, a C₁₈, utilizada principalmente o isolamento e pré-concentração dos analitos e se caracteriza por ser hidrofóbica e não seletiva (TRAN, HYNE, DOBLE, 2007). Existem outros sorventes baseados em sílica (ligados quimicamente) como C₂, C₈, cianopropil, aminopropil e cicloexil com desvantagens de não serem estáveis na faixa de pH de 2 a 8 e retenção irreversível de compostos básicos devido a presença de grupos silanóis residuais em suas estruturas (MELO, COLLINS, JARDIM, 2005; OSHITA, JARDIM, 2014).

Na TABELA 3.1, são apresentados os mecanismos, os tipos de sorvente e aplicabilidade dos principais sorventes comerciais disponíveis.

TABELA 3.1 – FASES SORVENTES PARA SPE

Mecanismo	Sorvente	Tipo de analito
Apolar (fase reversa)	C ₁₈ , C ₈ , C ₂ , cicloexil, cianopropil, polimérico	Apolares (ex.: alquilas e aromáticos)
Polar (fase normal)	Sílica, diol, ciano, aminopropil, diamino	Polares (ex.: aminas e hidroxilas)
Troca catiônica	Forte (ácido sulfônico ou Fraco (ácido carboxílico)	Carregados positivamente (ex.: aminas)
Troca iônica	Forte (tetraalquilamônio) ou Fraco (amino)	Carregados negativamente (ex.: ácidos orgânicos)

FONTE: Modificado de (JARDIM, 2010).

Sorventes capazes de atuarem em uma faixa mais ampla de polaridade (pH 1 a 14) apresentam um balanço hidrofílico-hidrofóbico na sua estrutura, como por exemplo, as fases Oasis[®] HLB (Waters[®]) e Strata[™]-X (Phenomenex[®]), que são sorventes poliméricos. A fase Oasis[®] HLB é um copolímero macroporoso de caráter hidrofóbico e hidrofílico, o que pode permitir a extração de compostos polares. A fase Strata[™]-X é um material polimérico com mecanismos de retenção dos analitos por meio de várias interações (hidrofóbicas, π - π e ligações de hidrogênio) proporcionando uma forte retenção de compostos neutros, ácidos ou básicos sob condições agressivas de lavagem com solventes orgânicos (FONTANALS, MARCÉ, BORRULL, 2005).

Porém, apesar de inserir a potencialidade no que se refere à extração de compostos de caráter mais hidrofílico do meio aquoso, os cartuchos de SPE geralmente apresentam um custo elevado (por exemplo: SPE RP 18 LiChrolut[®] - compostos não polares - 500 mg, 3 mL, Merck[®], R\$ 38,89; SPE Si 60 LiChrolut[®] - compostos polares - 500 mg, 3 mL, Merck[®], R\$ 60,21 em 12/2017), principalmente aqueles sorventes com balanço hidrofílico/hidrofóbico citados anteriormente. Além disso, esses dispositivos são descartáveis (recomendado utilizar para uma única sorção) ou podem ser utilizados mais algumas poucas vezes, o que acarreta em gastos significativos para cada análise realizada (SMITH, 2003).

Com relação à aplicação da SPE para determinação e CECs em matrizes aquosas, Montagner e Jardim desenvolveram um método para determinação de 15 CECs utilizando SPE comercial com cartucho Oasis[®] HLB de 500 mg e detecção por HPLC-DAD-FLD (MONTAGNER, JARDIM, 2011). Para o preparo das amostras do rio Atibaia-SP (foi utilizado um volume relativamente grande de solvente orgânico) para o condicionamento de cada cartucho (6 mL) e dessorção (4 x 3 mL de metanol - MeOH), baixas recuperações (em torno de 50%).

Vulliet e colaboradores utilizaram cartucho SPE para extração de 66 CECs em águas subterrâneas por LC-MS/MS (58 compostos) e GC-ToF-MS (8 compostos) (VULLIET et al., 2014). Foi utilizado 100 mL de amostra e cartucho Oasis[®] HLB, condicionado com 10 mL de metanol/diclorometano (7:3 v/v) seguido de 10 mL de água ultrapura. Foi eluído com 2 x 3 mL de metanol/diclorometano (7:3 v/v) seguido de 4 mL de acetonitrila (ACN), seco, reconstituído em metanol/água (1/4) e preparado para ser injetado no LC-MS/MS. Também foi

utilizado 500 mL de amostra e cartucho Stracta X[®], condicionado com 4 mL de metanol seguido de 4 mL de ACN/MeOH/isopropanol (1/1/1) e 20 mL de água. A amostra foi eluída com 4 mL de ACN/MeOH/isopropanol (1/1/1) seguido de 4 mL de ACN e preparada para injeção no GC-ToF-MS. Foram determinados 36 compostos (80 amostras) dentre eles bisfenol em 96% das amostras e concentração máxima de 7,400 ng L⁻¹, cafeína em 91% das amostras e concentração máxima de 1,240 ng L⁻¹.

Caban e colaboradores utilizaram SPE em formato de disco (speedisk H₂O-Philic DVB da J.T. Baker[®]) para extração de 17 CECs em água potável da Polônia (CABAN et al., 2015). Para pré-condicionamento dos discos utilizou-se 20 mL de metanol e 20 mL de água ultrapura. A amostra foi passada pelo disco e após foi lavado com 20 mL de solução aquosa de metanol 5% e 20 mL de n-hexano. Após dessorção com 20 mL de metanol, o extrato foi seco, derivatizado e analisado por GC-MS-SIM. Os Limites de Detecção do Método (MDLs) variaram de 0,9 a 5,7 ng L⁻¹, com recuperações acima de 80% para a maioria dos analitos.

Métodos alternativos para análise de águas utilizando novas fases extratoras alternativas, frente as comerciais, tem sido cada vez mais desenvolvidos, como por exemplo, Vera e colaboradores desenvolveram membranas de inclusão de polímero (PIMs) que consistem de um polímero de base, os mais comuns são o cloreto de polivinil (PVC) ou triacetato de celulose (CTA) e um plastificante. Nesse trabalho foi utilizado nitrofenil octil éter (NPOE) como plastificante. Foram extraídos de águas naturais (100 mL de amostra) três pesticidas (clorpirifós, diazinon e ciprodinil), após 6h de extração utilizando agitação rotativa. Foram recuperados com 1 mL de ACN assistidos por banho ultrassônico por 15 min e a partir desse extrato foram determinados por GC-MS/MS e foi obtida faixa linear de 50 a 1000 ng L⁻¹, com uma boa linearidade $R^2 \geq 0,995$, adequadas recuperações entre 85 a 119% e precisão < 21% com n = 3 (VERA et al., 2018).

Na mesma linha de desenvolvimento de novas fases extratoras, Abujaber e colaboradores, desenvolveram nanopartículas de celulose magnética (MCNPs) revestidas com líquido iônico (hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio [C4MIM] [PF6] através de interações eletrostáticas. O método de extração em fase sólida magnética (MSPE) foi utilizado para extração e determinação de quatro fármacos (paracetamol, ibuprofeno, naproxeno e diclofenaco) em águas

naturais por HPLC-UV. O desvio padrão relativo entre 1,4 e 7,6%, limite de detecção entre 3,2 a 7,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e limite de quantificação entre 3,2 a 7,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e recuperações entre 85 a 116% qualificando um método simples, rápido e ecológico (ABUJABER et al., 2018).

Com todo o exposto, este trabalho visa uma investigação de métodos de preparo de amostras utilizando como extrator o polipirrol. A seguir serão apresentados no CAPÍTULO 3, o desenvolvido um dispositivo simples, robusto e de baixo custo de PPy-SPE na forma de disco para extração de contaminantes de preocupação emergente em matriz aquosa com determinação por GC-MS. O suporte utilizado para a formação do filme de polipirrol foi uma membrana de celulose. As propriedades físico-químicas do material foram investigadas e associadas ao desempenho das fases extratoras avaliadas, o processo de extração foi padronizado, além de ser realizada a análise dos parâmetros de mérito e aplicação em amostras de água de rio da região metropolitana de Curitiba-PR.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivos Gerais

Avaliar novos dispositivos de extração, simples e de baixo custo, baseado em polímeros condutores, como o polipirrol (PPy), para sorção e posterior determinação de contaminantes de preocupação emergente (CECs) em amostras de água por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

3.2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar, via polimerização química, e avaliar a potencialidade do PPy como fase extratora para contaminantes emergentes;
- Construir um dispositivo PPy-SPE suportado em membranas de celulose para extração de contaminantes de preocupação emergente;
- Otimizar as condições de polimerização do pirrol (Py) na membrana de celulose;
- Caracterizar as membranas de celulose modificadas com polipirrol (CM-PPy);
- Otimizar os parâmetros de sorção do dispositivo CM-PPy-SPE;
- Analisar os parâmetros de mérito do método CM-PPy-SPE/GC-MS padronizado;
- Avaliar a aplicabilidade do método CM-PPy-SPE/GC-MS utilizando amostras de água de rio da região metropolitana de Curitiba-PR.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 Experimentos Iniciais

Uma nova configuração para utilizar o PPy como fase extratora foi avaliada. Por via química, discos de celulose foram modificados com o polímero. Previamente foram recortados discos de celulose provenientes de papel de filtro (marca Qualy®, com gramatura de 80 g m^{-2} , espessura de $205 \mu\text{m}$ e tamanho de poro de $14 \mu\text{m}$) com diâmetro de aproximadamente 2,5 cm. Foram utilizados como agente oxidante persulfato de amônio (PSA) $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e o monômero pirrol, previamente destilado, na concentração de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Os discos de celulose foram mergulhados na solução de pirrol $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ por 10 minutos e após foram mergulhados delicadamente em água ultrapura para a etapa de lavagem de algum excesso de monômero. Em seguida, foram mergulhados na solução de PSA $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes tempos de imersão (3, 5 e 10 minutos) e novamente foram delicadamente lavados em outro recipiente contendo água ultrapura. Alguns cuidados foram tomados na preparação dos discos como, utilizar uma placa de Petri de vidro para a solução de pirrol para que o mesmo não reagisse com o plástico do recipiente (placa de Petri de plástico), proteger as pontas das pinças com papel filme para que a área pinçada na superfície do disco também formasse o filme de polipirrol, como nas demais e utilizar luva para manusear os discos de celulose para evitar engorduramento através das mãos. A FIGURA 3.3 demonstra o arranjo de placas de Petri na ordem utilizada para preparação dos discos modificados.

FIGURA 3.3 - ETAPAS PARA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL EM PAPEL DE CELULOSE VIA QUÍMICA



FONTE: A autora (2018).

Para fins comparativos, foi realizado o mesmo experimento, nas mesmas condições, com o diferencial de se utilizar banho de gelo na fase do agente oxidante, FIGURA 3.4, na tentativa de formação de um filme com ordem morfológica das cadeiras de polipirrol mais alinhadas, se comparada com a formação de um arranjo aleatório, com temperaturas mais elevadas, tendo como vantagens uma maior qualidade do filme de polipirrol, como por exemplo, maior condutividade elétrica (CAVALLARO, COLLIGIANI, CUM, 1992)

FIGURA 3.4 - ETAPAS PARA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL EM PAPEL DE CELULOSE VIA QUÍMICA COM BANHO DE GELO



FONTE: A autora (2018).

Em outra abordagem, a polimerização de discos de celulose foi realizada *in situ*, ou seja, foram mergulhados discos e uma solução 0,50 mol L⁻¹ de pirrol e com auxílio de uma micropipeta foi injetado certa quantidade de agente oxidante PSA 0,50 mol L⁻¹ no mesmo recipiente (FIGURA 3.5). A reação em cadeia começou no recipiente e deixou-se um determinado tempo, até a impregnação do polipirrol no disco de celulose.

FIGURA 3.5 - POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL EM PAPEL DE CELULOSE VIA QUÍMICA

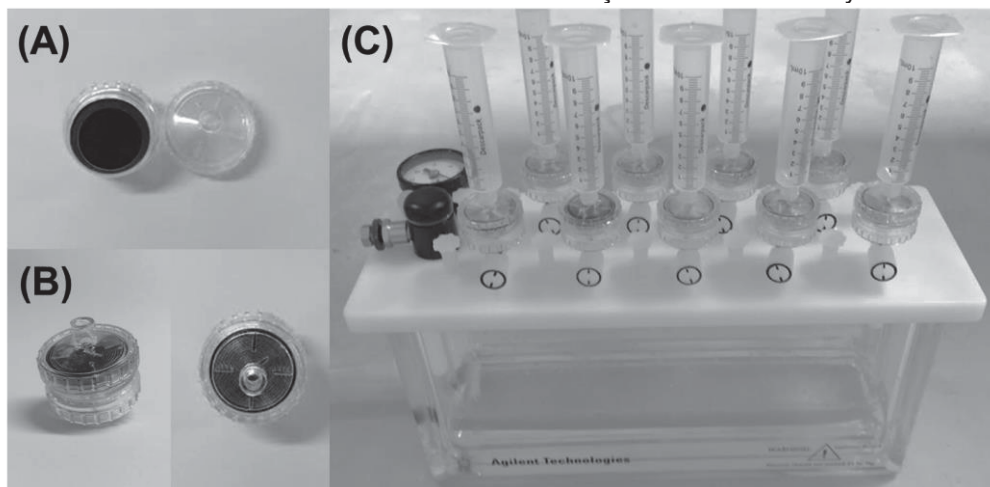


FONTE: A autora (2018).

3.3.2 Membrana de Celulose Modificada com Polipirrol (CM-PPy)

Previamente, foram recortados discos de celulose provenientes de papel de filtro quantitativo com diâmetro de 25 mm. Foram utilizados como agente oxidante o PSA (persulfato de amônio) na concentração de $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e o monômero de pirrol, previamente destilado, $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Em um recipiente com gelo, foi colocado um béquer sob o gelo e as membranas de celulose foram imersas na solução aquosa de pirrol. Posteriormente, no mesmo béquer, foi adicionado à solução de agente oxidante e deixadas reagir por 40 minutos. Após finalizada a polimerização, as CM-PPy foram lavadas com 10,0 mL de água ultrapura, 10,0 mL de metanol e finalizando com mais uma lavagem 10,0 mL de água ultrapura. Essa lavagem foi necessária para retirada de excesso do polipirrol que não ficou intercalado na membrana de celulose. As CM-PPy foram alocadas no *holder* para as etapas de sorção dos analito via SPE em disco, conforme FIGURA 3.6.

FIGURA 3.6 – DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO COM A CM-PPy



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) *holder* SPE aberto.

(B) *holder* SPE fechado com a CM-PPy.

(C) *manifold* com os dispositivos (*holder* + CM-PPy + seringa).

3.3.3 Seleção da Membrana de Celulose

Foram avaliadas diferentes membranas de celulose para utilizar como suporte de modificação com polipirrol. Na TABELA 3.2 é indicado o fabricante do papel e demais especificações. Cada membrana foi modificada *in situ* utilizando soluções aquosas de Py $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e persulfato de amônio (PSA) $0,50 \text{ mol L}^{-1}$

por 30 minutos, em temperatura ambiente. Após a modificação foi percolada a amostra aquosa contendo os 14 analitos na concentração de $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$, seguido das etapas de dessorção em metanol, secagem do solvente e derivatização prévia à injeção no sistema GC-MS.

TABELA 3.2 - TIPOS DE MEMBRANAS DE CELULOSE TESTADAS PARA SUPORTE DA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL

Tipo	Marca	Especificações
Papel filtro qualitativo	J. Prolab®	Gramatura: 80 g m^{-2} Espessura: $205 \mu\text{m}$ Tamanho de poro: $14 \mu\text{m}$
Papel filtro quantitativo	Unifil®	Gramatura: 85 g m^{-2} Espessura: $200 \mu\text{m}$ Tamanho de poro: $< 4-7 \mu\text{m}$
Membrana de nitrato de celulose	Sartorius Stedim®	Gramatura: $47,5 \text{ g m}^{-2}$ Espessura: $110 \mu\text{m}$ Tamanho de poro: $0,45 \mu\text{m}$
Membrana de celulose regenerada	Sartorius Stedim®	Gramatura: - Espessura: $160 - 200 \mu\text{m}$ Tamanho de poro: $0,45 \mu\text{m}$

FONTE: A autora (2018).

3.3.4 Otimização da reação de polimerização da membrana

Neste trabalho, com intuito de alcançar as condições de compromisso na etapa de polimerização da membrana de celulose, realizou-se um planejamento fatorial em duplicata em dois níveis, superior (+) e inferior (-), representado por 2^3 . As variáveis selecionadas foram a concentração do monômero, a temperatura e o tempo de polimerização. Na TABELA 3.3 estão os valores para os níveis selecionados para o estudo.

TABELA 3.3 - NÍVEIS CODIFICADOS DAS VARIÁVEIS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^3 PARA PADRONIZAÇÃO DA REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO

Variáveis	Nível (-)	Nível (+)
Temperatura da polimerização ($^{\circ}\text{C}$)	0	40
Tempo de polimerização (min)	20	40
Concentração do monômero (mol L^{-1})	0,10	0,50

FONTE: A autora (2018).

Após modificação *in situ* das membranas de celulose em cada condição estabelecida, nesta etapa conduzida em papel da marca Unifil®, foram percolados

100 mL de amostra aquosa contendo $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ dos 14 analitos e padrão interno (PI), neste caso, bisfenol A- d_{16} . Os testes foram realizados em duplicatas.

3.3.5 Caracterização das Membranas de PPy

a) Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (SEM/EDX)

Para este estudo de caracterização foi utilizado um Microscópio TESCAN VEGA3 LMU com sistema de análise química tipo EDX (Oxford) com software AZ Tech (Advanced) com detector tipo SDD de 80 mm^2 . As medidas foram realizadas no Centro de Microscopia da UFPR, sendo utilizado a mesma amostra para caracterização no SEM e para a análise química elementar semiquantitativa das amostras (EDX).

As amostras foram preparadas utilizando um porta-amostra na forma de disco em liga de alumínio com superfície lisa, uma fita de cobre dupla face foi fixada na superfície lisa do disco, onde foram fixadas as membranas que foram submetidas ao recobrimento com ouro (processo de metalização) por deposição de íons metálicos de ouro (Au).

Para realização desta deposição utilizou-se um metalizador marca Bal-Tec modelo SCD 050 Sputter Coater, sendo os parâmetros de deposição iônica estabelecidos da seguinte forma, temperatura na câmara de metalização de 25°C , tensão de 15 kV e tempo de deposição de 60 segundos, fornecendo um filme de ouro na superfície das membranas.

b) Espectroscopia no Infravermelho por Reflectância Total Atenuada (ATR)

Para a análise de infravermelho foi utilizado um espectrômetro de infravermelho Bruker Vertex 70 com acessório de reflectância total atenuada horizontal empregando um cristal de seleneto de zinco (ZnSe). Todos os espectros foram obtidos na faixa de 600 a 4000 cm^{-1} e 32 varreduras. Antes das medidas das amostras (celulose e celulose modificada com PPy) foi feita uma avaliação na ausência da amostra (prova em branco). As amostras não precisaram de tratamento prévio para essa análise. As medidas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia de Absorção no Infravermelho do DQ/UFPR.

3.3.6 Otimização das Variáveis da SPE

Para a sorção dos analitos na membrana de celulose modificada com polipirrol foram avaliados o volume, o pH, a vazão da amostra em temperatura ambiente e volume de solvente para dessorção, de forma univariada ($n=3$). Para todos esses estudos foram utilizados 100 mL de amostra aquosa contendo $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ do *mix* de contaminantes de preocupação emergente mais o padrão interno (bisfenol A- d_{16}), na mesma concentração.

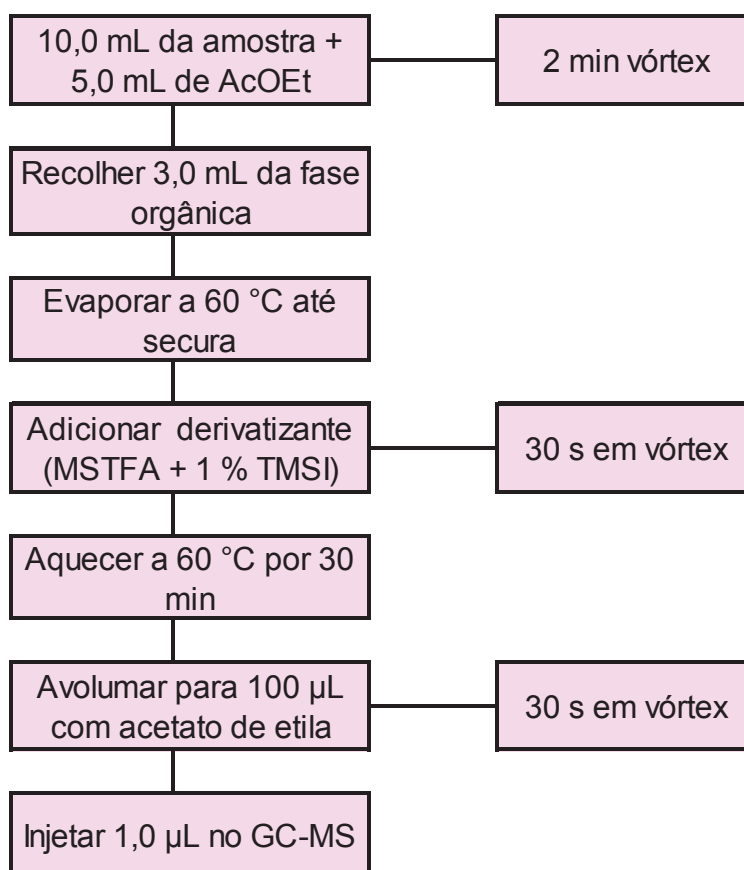
O volume de amostra foi avaliado e foram testados os volumes de 5, 15, 25, 50 e 100 mL de amostra aquosa contendo os analitos, sempre nas mesmas concentrações ($1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$). Em seguida, a influência do pH foi avaliada em diferentes valores: 2,0; 4,0; 5,0; 7,0; e 9,0, através da adição de volumes apropriados de soluções de NaOH e HCl (1 mol L^{-1}). A vazão das amostras no sistema *manifold* de extração também foi avaliada nos valores aproximados de $3,5 \text{ mL min}^{-1}$ (lenta), $8,5 \text{ mL min}^{-1}$ (média) e $24,0 \text{ mL min}^{-1}$ (rápida).

Com relação à etapa de dessorção foram testados volumes de 1,0 mL de metanol em sequência, por 5 etapas, sendo estes volumes recolhidos individualmente para determinação cromatográfica, após etapa de derivatização. Desta maneira foi possível avaliar qual o volume de solvente seria necessário para uma dessorção efetiva dos 14 analitos, a fim de se evitar o efeito de memória.

3.3.7 Estudo da Capacidade de Sorção da Membrana

A fim de avaliar a capacidade extratora da membrana de celulose modificada com polipirrol foram feitos experimentos comparativos utilizando a extração líquido-líquido (LLE). Utilizou-se uma solução de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ dos CECs, retirou-se uma alíquota de 10,0 mL dessa solução e procedeu-se o fluxograma da FIGURA 3.7.

FIGURA 3.7 - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE)



FONTE: A autora (2018).

Uma amostra de 100 mL na concentração $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ dos CECs foi percolada através da CM-PPy e do filtrado (amostra após passar pela membrana) retirou-se uma alíquota de 10,0 mL e também procedeu-se a LLE, nas mesmas condições anteriores, melhor ilustrado na FIGURA 3.8.

FIGURA 3.8 – EQUEMA ILUSTRATO DO PROCEDIMENTO DA LLE PARA AS DUAS AMOSTRAS (SEM E COM EXTRAÇÃO UTILIZANDO A CM-PPy)



FONTE: A autora (2018).

Após a LLE das duas alíquotas ($n=3$), retirou-se 3,0 mL da fase orgânica de cada uma, procedeu-se secagem total, derivatização e injeção no sistema cromatográfico. Após, foi feita a comparação das áreas dos CECs da alíquota inicial e da pós extração para elucidar capacidade de sorção (eficiência da extração/dessorção) utilizando a CM-PPy.

3.3.8 Parâmetros de Mérito

Após a etapa de otimização das condições da CM-PPy-SPE, procedeu-se à validação analítica do método proposto por meio de uma série de parâmetros de mérito. Não há legislação brasileira que oriente especificamente sobre validação de métodos para aplicação em amostras ambientais. Foi utilizado para balizar a validação dessa metodologia a *AOAC International* e a Resolução RDC nº 166/2017 da ANVISA, Guia para Validação de Métodos Analíticos (ANVISA, 2017), como principais referências.

a) Curva Analítica e Linearidade

Para o estudo da linearidade preparou-se uma solução *mix* aquosa dos contaminantes de preocupação emergente na concentração de 1,00 mg L⁻¹ e 1,00 µg L⁻¹ e foram realizadas diluições para a obtenção das seguintes concentrações: 500; 250; 100; 50; 25; 10; 1,0; 0,50; 0,10; e 0,05 µg L⁻¹. A curva analítica com padronização interna foi construída plotando-se os valores médios das áreas dos picos cromatográficos (A_A/A_{PI} = área de pico do analito/área de pico do padrão interno) em função das concentrações. Segundo a ANVISA é recomendado que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser ≥ 0,99 (ANVISA, 2017).

b) Precisão

Pode ser considerada em três níveis diferentes: repetibilidade intra-dia e inter-dias e reprodutibilidade (ANVISA, 2017). É calculada através da seguinte EQUAÇÃO 3.1:

$$RSD (\%) = CV (\%) = \left(\frac{SD}{CMD} \right) \times 100$$

Em que:

SD = desvio padrão

CMD = concentração média determinada

EQUAÇÃO 3.1

c) Repetibilidade e Reprodutibilidade da Membrana

Para os estudos de repetibilidade, utilizou-se uma única CM-PPy para 6 extrações consecutivas, com intuito de avaliar a reutilização das mesmas. Para isto, entre as extrações foi adicionada uma etapa de limpeza das membranas percolando 10 mL de água ultrapura e 1 mL de metanol (3 ciclos), a fim de se evitar efeito de memória (“*carryover*”) entre as extrações. Para este estudo foi utilizado 100 mL de amostra aquosa enriquecida com 500 µg L⁻¹ de cada analito.

Já para os estudos de reprodutibilidade foram confeccionadas diferentes CM-PPy para extração dos contaminantes de preocupação emergente. A ANVISA

sugere que a reprodutibilidade do método deve ser verificada por, no mínimo, 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada (ANVISA, 2017). Para os intra-dia e inter-dias da reprodutibilidade foram selecionadas 3 concentrações dos analitos e realizada as análises no mesmo dia (intra-dia) e em dias diferentes (inter-dias), ambos em quadruplicata. Para o experimento de reprodutibilidade, as concentrações avaliadas foram os valores de LOQ, 10 µg L⁻¹ e 100 µg L⁻¹ (para os compostos cafeína, estrona, paracetamol e testosterona, a concentração mais baixa foi de 25 µg L⁻¹ em razão da sensibilidade desses analitos).

d) Exatidão

A exatidão é verificada a partir de, no mínimo 9 determinações contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja, 3 concentrações (baixa, média e alta) com 3 réplicas de cada (ANVISA, 2017). A exatidão, EQUAÇÃO 3.2, é expressa pela relação abaixo:

$$\text{Exatidão} = \left(\frac{\text{CME}}{\text{CT}} \right) \times 100$$

Em que:

CME = concentração média experimental
CT = concentração teórica

EQUAÇÃO 3.2

Para os estudos de exatidão, 3 membranas (CM-PPy) diferentes foram utilizadas. Foram percoladas amostras aquosas contendo os analitos nas concentrações de LOQ de cada analito, 10 ou 25 (dependendo da sensibilidade do analito) e 100 µg L⁻¹.

e) Limite de Quantificação (LOQ)

É a menor quantidade do analito que pode ser quantificada por um método analítico com um determinado grau de confiança. Utilizou-se a relação concentração média e desvio padrão para calcular o coeficiente de variação ($n =$

4). A partir desse valor, considerou-se que o LOQ seria o primeiro valor de concentração que tivesse RSD menor que 20%. Geralmente o LOQ é o primeiro ponto da curva analítica.

3.3.9 Aplicação do Método em Amostras Reais

Foram coletadas amostras de água em três pontos do rio Belém, localizado na região metropolitana da cidade de Curitiba/PR. A acessibilidade e a proximidade de possíveis fontes poluidoras foram os fatores que mais influenciaram a escolha dos pontos amostrais. A coleta foi realizada no inverno ($n = 3$) com antecedência de 24h de tempo seco para evitar o efeito de lixiviação de escoamento superficial provocado por chuvas. Na TABELA 3.4 estão os pontos amostrais onde foram coletadas as amostras.

TABELA 3.4 - ENDEREÇO E COORDENADAS DOS PONTOS AMOSTRAIS DO RIO BELÉM

Pontos amostrais	Coordenadas	Endereço
Ponto 1 (Nascente)	-25.35374, -49.26917	Rua Rolando Salin Zappa Mansur
Ponto 2 (Parque São Lourenço)	-25.38816, -49.2666	Rua Prof. Nilo Brandão
Ponto 3 (ETE)	-25.50755, -49.21488	Rua Dr. Bley Zornig

FONTE: A autora (2018).

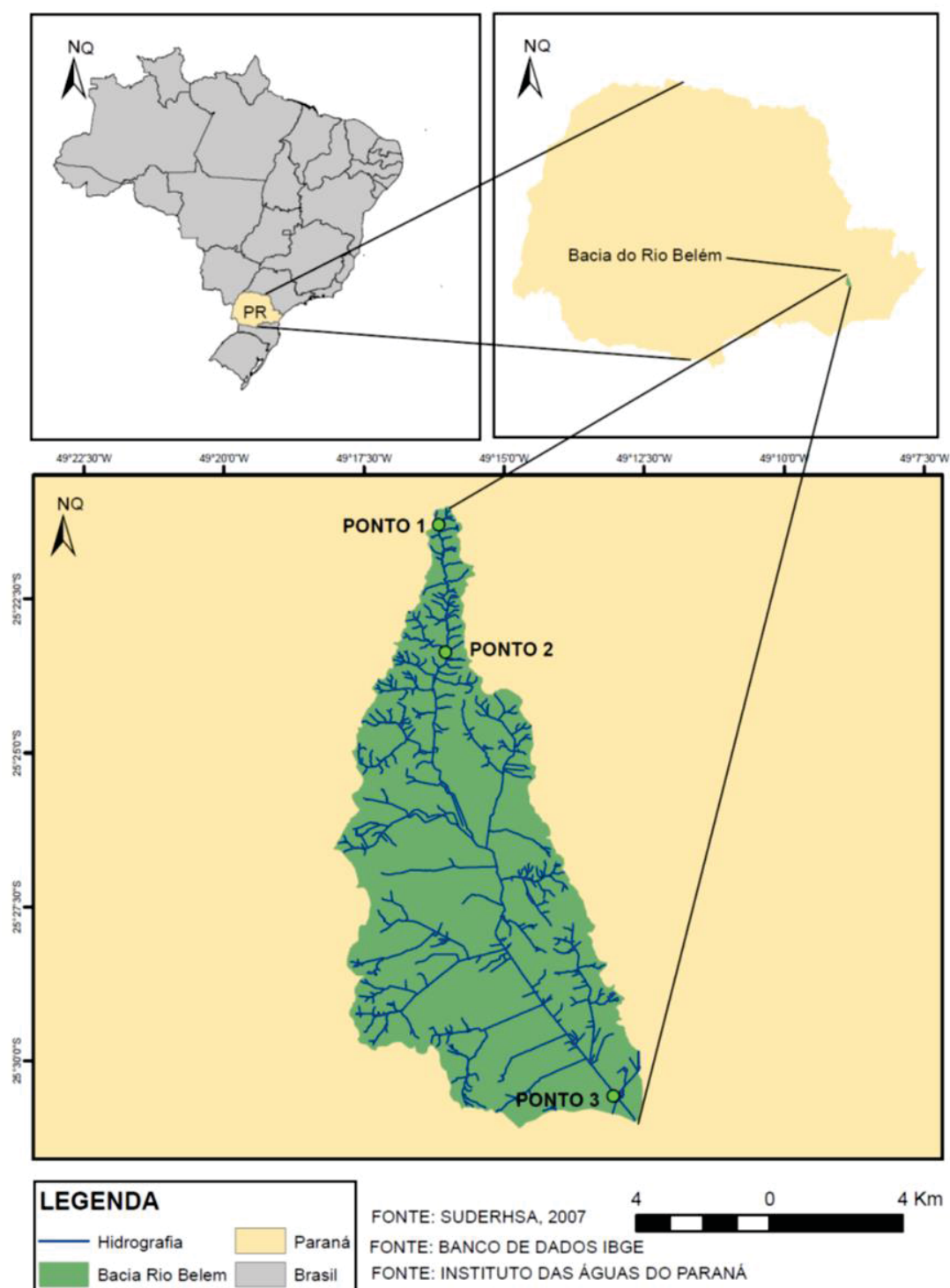
As amostras foram coletadas com o auxílio de um recipiente de polietileno previamente ambientado com a amostra a ser coletada. As amostras foram então transferidas para frascos de vidro âmbar, previamente limpos com enxágues utilizando água ultrapura, com capacidade de 4 litros. A FIGURA 3.9 mostra o mapa onde os 3 pontos amostrais foram estabelecidos para coleta.

Em laboratório, as amostras foram filtradas à vácuo em sistema de kitassato e funil de Büchner, previamente descontaminados, utilizando discos de microfibra de vidro (MN GF-3) para retirada de material particulado e matéria orgânica que possa existir na água do rio. As amostras foram mantidas sob refrigeração a 4 °C e a etapa de extração dos analitos foi realizada em até 24 h (à temperatura ambiente) após a coleta.

Foi adicionado PI (bisfenol A- d_{16}) no balão volumétrico, evaporado o solvente e após foi adicionado a água de rio filtrada até o menisco de 100 mL com triplicata de cada ponto de coleta. A amostra foi percolada nas membranas (CM-PPy), e a dessorção foi feita utilizando 1,0 mL de metanol. O extrato metanólico

foi evaporado, realizada etapa de derivatização e, por fim, avolumado com acetato de etila para injeção no sistema cromatográfico.

FIGURA 3.9 – MAPA DE LOCALIZAÇÃO DA BACIA DO RIO BELÉM E PONTOS AMOSTRAIS DE COLETA DE ÁGUA DE RIO



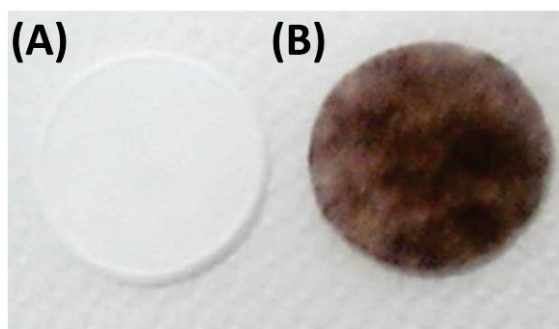
FONTE: A autora (2018).
 LEGENDA: ● Pontos amostrais.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Utilização de Membranas de Celulose como Substrato para Formação de Filmes de Polipirrol

Para as membranas obtidas por polimerização em etapas, FIGURA 3.10, foi observada uma coloração castanha, que não é a característica do polímero e não homogeneia. Talvez as etapas de limpeza com água, prejudicaram a polimerização completa ou carregado o polipirrol para a solução de lavagem.

FIGURA 3.10 - MEMBRANA DE CELULOSE POLIMERIZADA EM ETAPAS

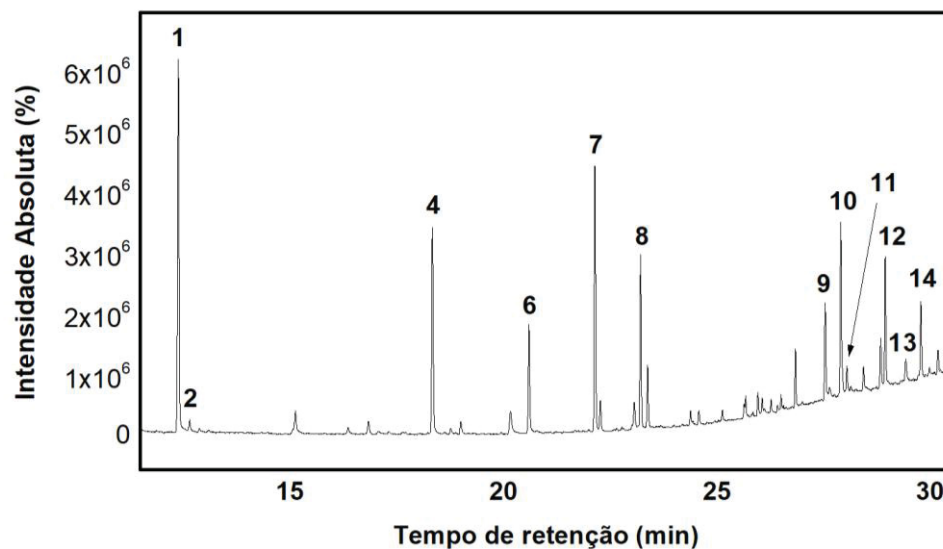


FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) prova em branco da celulose.
(B) celulose modificada com polipirrol.

Como teste preliminar, sem total controle das condições envolvidas, avaliação de outros parâmetros como, por exemplo, concentração da solução de monômero, a polimerização *in situ* se mostrou bastante satisfatório, já que o disco de celulose ficou com uma coloração preta relativamente homogênea e intensa. Após a lavagem do dispositivo e a constatação da robustez do filme de PPy na superfície da celulose, optou-se por avaliá-lo como fase extratora.

O cromatograma apresentado na FIGURA 3.11, evidencia a presença podemos de 12 dos 14 CECs, confirmando a potencialidade dessa nova configuração de dispositivo. Os compostos não detectados, atrazina (3) e cafeína (5), são os contaminantes de preocupação emergentes com menores valores de pK_a , 1,70 e 0,92 respectivamente, conforme TABELA 1.2 no CAPÍTULO 1, são os CECs mais ácidos dos analitos estudados. Provavelmente a formação desse filme de polipirrol não favoreceu a interação desses compostos mais ácidos.

FIGURA 3.11 – CROMATOGRAMA DOS ANALITOS COM MEMBRANA POLIMERIZADA *IN SITU*

FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (1) ibuprofeno.

(2) paracetamol.

(3) n.d.

(4) 4-octilfenol.

(5) n.d.

(6) 4-nonilfenol.

(7) triclosan.

(8) bisfenol A.

(9) estrona.

(10) β -estradiol.

(11) testosterona.

(12) 17α -etinilestradiol.

(13) progesterona.

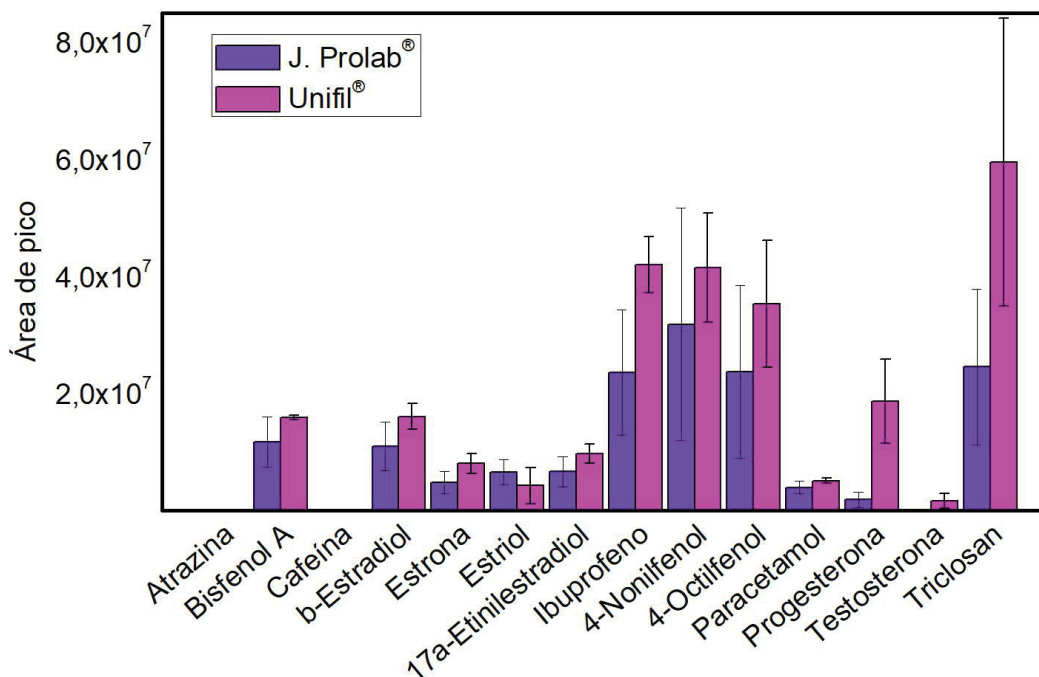
(14) estriol.

3.4.2 Seleção do Tipo de Membrana de Celulose

Foram avaliados 4 tipos de membranas de celulose diferentes. As membranas de nitrato de celulose e celulose regenerada não se mostraram estáveis em contato com o solvente de dessorção (metanol), degradando-se. Por este motivo, para a segurança do sistema cromatográfico, optou-se por não proceder as injeções no sistema GC-MS para uma verificar possível eficiência de extração.

Na FIGURA 3.12 é mostrado um estudo comparativo entre as duas membranas de celulose da marca J. Prolab® e Unifil® que puderam ser avaliadas, levando-se em consideração sua estabilidade química em metanol. Nessas condições, os analitos atrazina e cafeína não foram extraídos ou foram extraídos em quantidades não detectáveis pelo equipamento.

FIGURA 3.12 - COMPARATIVO DE MEMBRANAS DE CELULOSE PARA SORÇÃO CONTENDO 14 ANALITOS EM AMOSTRA AQUOSA NA CONCENTRAÇÃO DE $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ EM TRIPLICATA



FONTE: A autora (2018).

De maneira geral, a membrana de celulose da marca Unifil® garantiu uma maior eficiência aparente com relação às áreas de pico e/ou menores desvios padrão para a maioria dos analitos. Acredita-se que a melhor eficiência de extração esteja relacionada a um maior controle de qualidade na fabricação desta membrana, uma vez que ela é recomendada para ser utilizada em análises quantitativas, possuir gramatura maior (papel mais grosso), espessura menor (espaço entre a compactação das fibras no papel) e menor tamanho de poro (porosidade), conforme TABELA 3.2 (item 3.3.3), quando comparado com a celulose da J. Prolab®. Tais fatores, portanto, podem estar relacionados com uma melhor polimerização do PPy na referida membrana, já que a celulose utilizada como suporte propicia modificação com maior quantidade de PPy, pois há mais camadas de fibras de celulose para deposição do filme e os pequenos poros facilitam maior contato da fase polimérica com os analitos.

Pode-se também observar com esse estudo, que mesmo polimerizando a membrana de celulose no mesmo recipiente, ainda foram obtidos grandes desvios padrão entre as membranas (FIGURA 3.12). Isso se deve à polimerização via química, que não tem um controle efetivo da maneira em que as cadeias poliméricas estarão dispostas na celulose. Pensando em uma alternativa para

contornar esse problema, para os próximos estudos foi adotada a utilização de padrão interno (PI) na amostra aquosa.

3.4.3 Otimização da Reação de Polimerização das Membranas

O planejamento fatorial 2^3 teve um número de experimentos igual a 16, pois as análises foram realizadas em duplicata. Na TABELA 3.5 estão os níveis avaliados (conforme TABELA 3.3, item 3.3.4) em cada membrana, já se empregando a membrana Unifil®. Fez-se uma média desses resultados e gerou-se um número qualitativo referente ao experimento (1-8).

TABELA 3.5 - NÍVEIS UTILIZADOS PARA REALIZAÇÃO DE REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO NAS MEMBRANAS DE CELULOSE

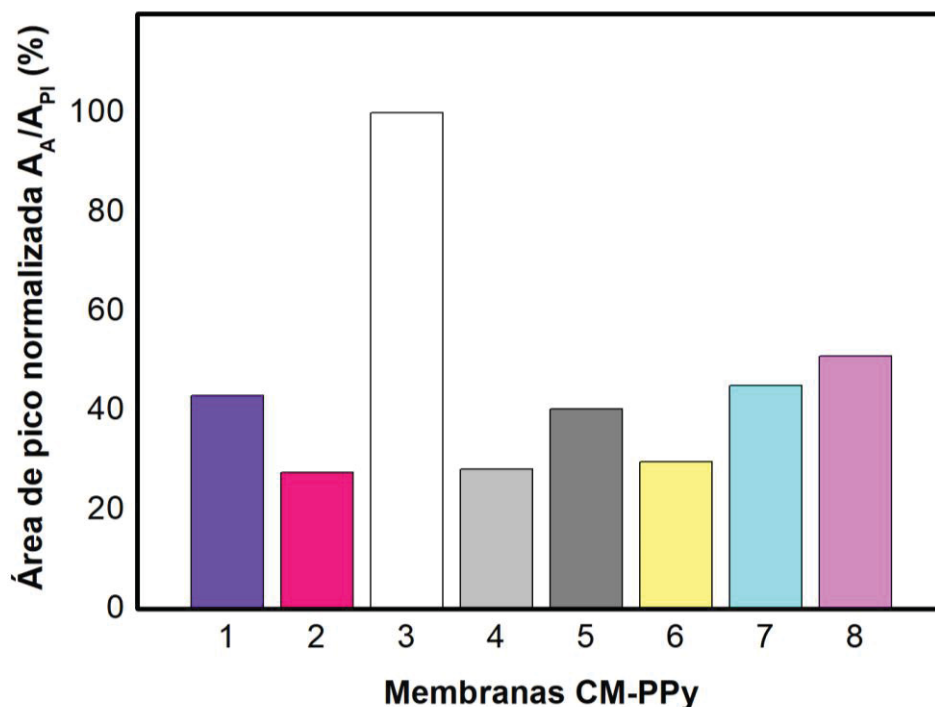
	Concentração de Py	Tempo (t)	Temperatura (T)
Membrana 1	(-)	(-)	(-)
Membrana 2	(+)	(-)	(-)
Membrana 3	(-)	(+)	(-)
Membrana 4	(+)	(+)	(-)
Membrana 5	(-)	(-)	(+)
Membrana 6	(+)	(-)	(+)
Membrana 7	(-)	(+)	(+)
Membrana 8	(+)	(+)	(+)

FONTE: A autora (2018).

Um dos agentes oxidantes mais usados para iniciar reação de polimerização via química do pirrol é o PSA. A variação da razão molar de PSA/Py pode influenciar o rendimento da reação e a condutividade elétrica do filme obtido. Foi utilizada a razão molar monômero/agente oxidante de 0,2, pois é a mais difundida na literatura devido à redução de etapas de síntese e obtenção de um material semiconductor (LEE, KIM, KIM, 1995; LEE et al., 1997).

De modo geral, a maneira de polimerização selecionada foi da membrana 3 (FIGURA 3.13) onde os melhores parâmetros, dentro dessas condições de compromisso, foram concentração do monômero $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, sendo a membrana imersa nas soluções por 40 minutos e utilizando banho de gelo ($T \approx 0^\circ \text{C}$).

FIGURA 3.13 - COMPARATIVO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE UNIFIL® PARA SORÇÃO EM AMOSTRA AQUOSA CONTENDO 14 ANALITOS NA CONCENTRAÇÃO DE $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ (n=2)



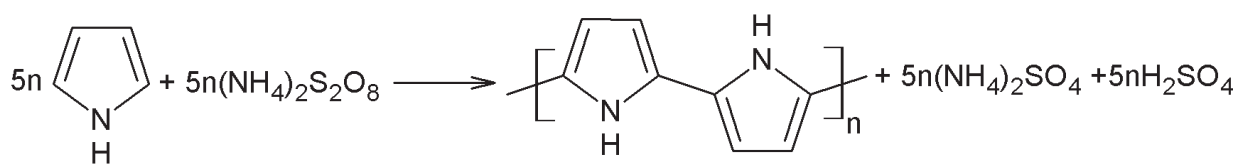
FONTE: A autora (2018).

NOTA: cada barra colorida representa a soma da área de pico normalizada de todos analitos para cada uma das diferentes membranas polimerizadas variando parâmetros conforme planejamento fatorial 2^3 (TABELA 3.5).

Uma menor concentração de monômero e um maior tempo de reação pode garantir que ocorra uma oxidação efetiva do pirrol. Menores temperaturas retardam a reação de reticulação do polímero (LEE, KIM, KIM, 1995) diminuindo o afastamento das cadeias, restringindo ligações cruzadas, obtendo-se uma estrutura molecular linear (SKOTHEIM, REYNOLDS, 2006). Com a formação de um material mais compactado, tem-se um maior contato com o polímero, aumentando a interação dos analitos com a membrana modificada com PPY, favorecendo a extração destes.

Na polimerização química, a eletroneutralidade da matriz do polímero, neste caso o pirrol, é preservada por incorporação de ânions da solução de reação. Esses contra-íons são geralmente provenientes do agente oxidante ou do produto reduzido do oxidante. Na FIGURA 3.14, tem-se a reação do pirrol com o agente oxidante persulfato de amônio (PSA), que é o precursor aniônico desta reação (SHINDE et al., 2014).

FIGURA 3.14 – REAÇÃO DO MONÔMERO PIRROL COM PERSULFATO DE AMÔNIO



FONTE: A autora (2018).

O Py em solução precursora aniônica causa a reação entre elétrons livres do agente oxidante e um dos elétrons do pirrol, quebrando assim uma ligação no pirrol. Subsequentemente o elétron livre no pirrol ataca outra ligação em outro pirrol para formar um par de elétrons, produzindo um elétron livre e o crescimento da cadeia polimérica de PPy ocorre (SHINDE, 2014). É importante salientar a presença de sítios ativos no filme de PPy produzido para extração, como interações π - π e ligação de hidrogênio, especialmente interessante para aplicação deste material para extração de compostos hidrofílicos.

3.4.4 Caracterização das CM-PPy

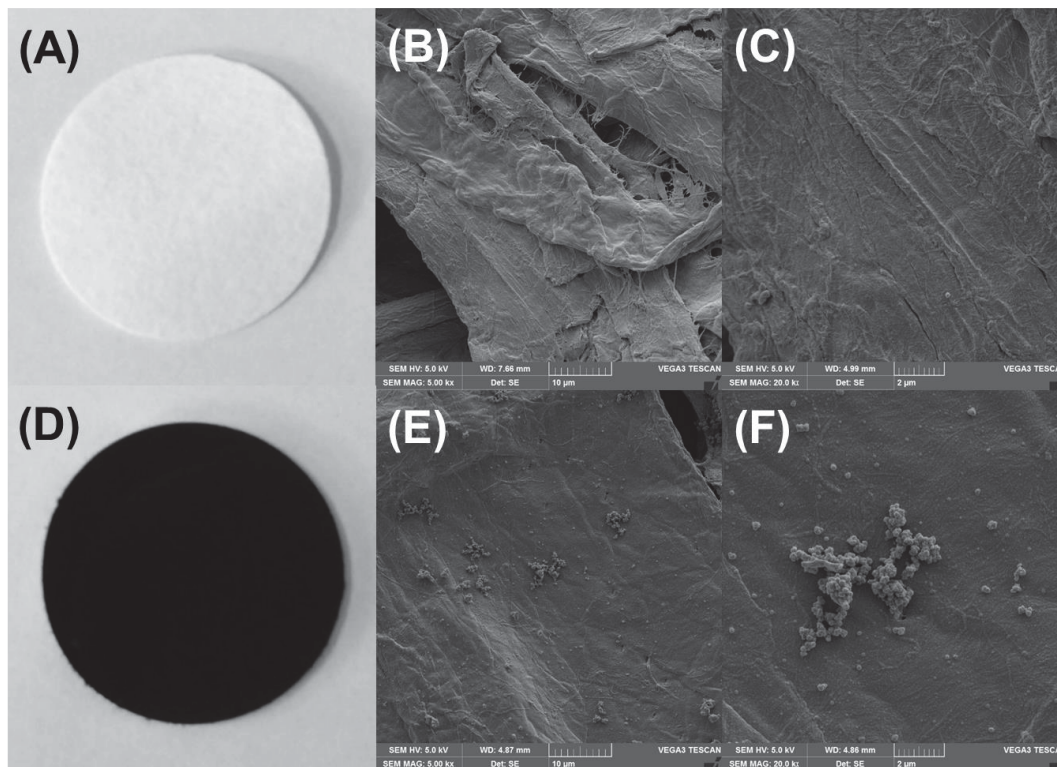
a) *Imagens das CM-PPy*

Devido à necessidade de interação do feixe eletrônico com a amostra, é preciso que elas sejam condutoras. Caso isto não ocorra, é possível torná-las condutoras através de vários processos físicos como evaporação ou a deposição de íons (*sputtering*) que possuem a capacidade de aterrjá-las; e ainda proporcionar o melhoramento do nível de emissão de elétrons secundários (BERENICE ANINA DEDAVID, 2007).

A morfologia de um polímero depende dos parâmetros selecionados para a sua polimerização (química ou eletroquímica), como a natureza do eletrólito suporte, a natureza do dopante, concentração do monômero, técnica eletroquímica utilizada, pH, temperatura, entre outros (ATEH, NAVSARIA, VADGAMA, 2006). Tanto a alteração de cor da membrana de celulose sem polimerização FIGURA 3.15(A) e após a polimerização do Py na FIGURA 3.15(D), quanto as micrografias FIGURA 3.15(B) e (D) com magnificação de 5 kx, (C) e (F) de 20 kx das mesmas, confirmam a presença do filme de PPy nas membranas de

celulose. Segundo as micrografias FIGURA 3.15(B) e (C) é possível observar uma das fibras de celulose sem a polimerização e FIGURA 3.15(E) e (F) as fibras da celulose com o filme polimérico e algumas formas de aglomerados de PPy tipo couve-flor, bastante característico deste material.

FIGURA 3.15 – IMAGENS DA MEMBRANA DE CELULOSE



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) celulose sem polimerização.

(B) micrografia da celulose sem polimerização (5 kx).

(C) micrografia da celulose sem polimerização (20 kx).

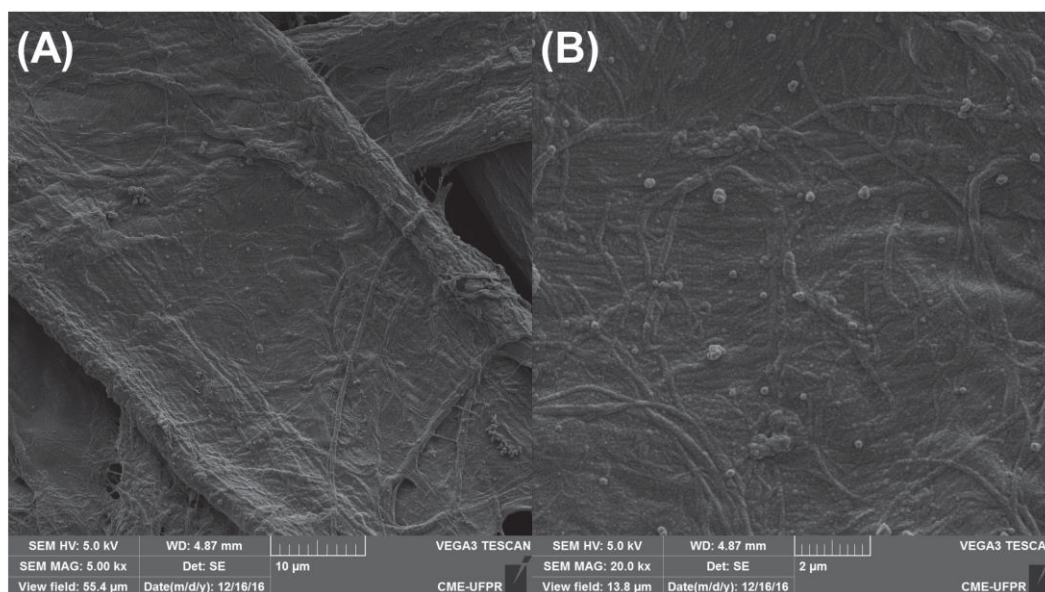
(D) celulose com filme depositado de PPy.

(E) micrografia da CM-PPy (5 kx).

(F) micrografia da CM-PPy (20 kx).

Tal observação corrobora com o que a literatura indica como morfologia típica de filmes de PPy, quando utilizado PSA como agente oxidante, tratando-se de uma estrutura compacta e uma morfologia rugosa e homogênea como lama, tipo “*mud-like*” (SHINDE, 2014). Desta maneira, espera-se que a rugosidade do material aumente a área superficial do polímero, o que, em princípio, acarretaria em maiores interações entre analito e fase extratora durante o processo de adsorção. Outra região da membrana modificada foi micrografada e na FIGURA 3.16 3.16 é possível observar menor incidência de aglomerados do polímero e maior recobrimento da fibra de celulose por um filme do polímero.

FIGURA 3.16 – MICROGRAFIA DE OUTRA REGIÃO DA MEMBRANA



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (A) CM-PPy com magnificação de 5kx.
(B) CM-PPy com magnificação de 20kx.

A diferença de massa entre as membranas não modificadas com PPy e as membranas modificadas com PPy foi de aproximadamente $0,966 \text{ g} \pm 0,3$ ($n=3$), o que significou um aumento de massa em relação ao suporte de papel de celulose de $\approx 8\%$.

Os espectros de EDX apresentam as porcentagens dos elementos químicos presentes na amostra que permitem uma análise semiquantitativa da mesma, pois é uma análise pontual (em outro ponto da amostra, pode-se encontrar diferentes porcentagens dos mesmos elementos ou até outros elementos químicos). Na TABELA 3.6, pode-se observar valores em porcentagem de cada elemento, em um ponto da amostra.

TABELA 3.6 - COMPOSIÇÃO DA MEMBRANA DE CELULOSE ANTES E DEPOIS DA EXTRAÇÃO

Elemento Químico	ANTES DA EXTRAÇÃO (% do elemento)	DEPOIS DA EXTRAÇÃO (% do elemento)
C	63,35	64,28
N	7,72	7,71
O	28,21	27,68
S	0,72	0,34
Total:	100,00	100,00

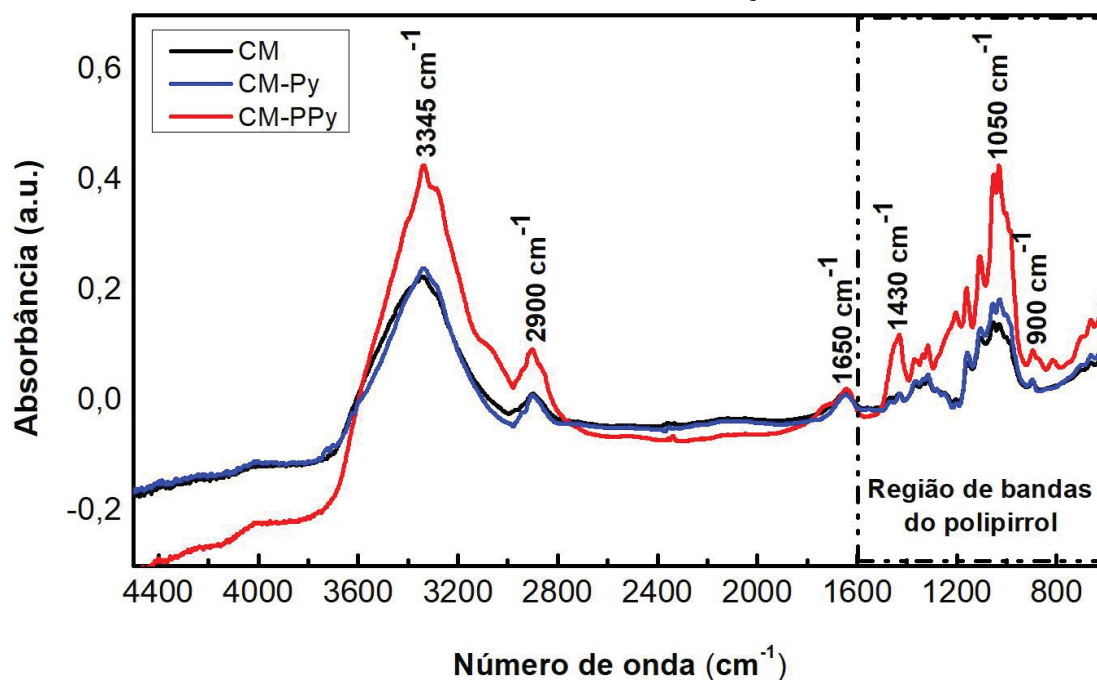
FONTE: A autora (2018).

Os elementos provenientes da celulose provavelmente são o carbono (C) e o oxigênio (O), com parcial contribuição da porcentagem de C e nitrogênio (N) proveniente do PPy. O enxofre (S) provavelmente é proveniente do agente oxidante (PSA) utilizado na polimerização química do Py, o qual deve também contribuir na porcentagem do oxigênio. Pode-se perceber que não há diferença significativa nos valores do número atômico (%) entre as duas amostras de CM-PPy, com exceção do elemento S. Neste caso, é provável que o excesso de agente oxidante na superfície deve ser lixiviado com a passagem de amostra aquosa e metanol, durante as etapas de adição de amostra e dessorção, respectivamente. Com esse resultado há um indicativo de que a CM-PPy possa ser reutilizada mais vezes para extração, o que seria uma característica bastante interessante quando comparado aos cartuchos comerciais descartáveis de SPE.

b) Espectros das CM-PPy por FTIR-ATR

Na FIGURA 3.17 são apresentados os espectros das principais bandas de absorção. Em $3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ são referentes aos grupos hidroxílicos (estiramento O-H celulósico) (BAPTISTA, BORGES, FERREIRA, 2010) e também pode-se notar no espectro (em vermelho) um alargamento maior dessa banda referente ao O-H da água ($4000\text{ a }3000\text{ cm}^{-1}$) pois o polipirrol é um polímero higroscópico. Em 2900 cm^{-1} deformação axial dos grupos C-H e (estiramento CH e CH₂) (WOLKERS et al., 2004).

FIGURA 3.17 – PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO NO FTIR-ATR



FONTE: A autora (2018).

As bandas características do polipirrol são predominantes na região de 1600-600 cm^{-1} (área delimitada tracejada) (ALLEN et al., 1997). Podem ser atribuídas às vibrações do anel pirrolidínico, em 1640 cm^{-1} estiramento assimétrico C=C e em 1430 cm^{-1} estiramento simétrico C=N (GEORGE, VEIS, 1991).

A banda localizada em 1015 cm^{-1} com um ombro em 1074 cm^{-1} , são estiramento C-N e deformação C-H. Banda de absorção das ligações C-O-(H) (vibração do anel piranose) em 1050 cm^{-1} e ligações β -glicosídicas entre unidades de glicana em 900 cm^{-1} , características de celulose. A banda observada em 870 cm^{-1} pode ser atribuída à vibração =C-H para fora do plano, referente à polimerização do pirrol. As principais bandas com as frequências estão ilustradas na TABELA 3.7.

TABELA 3.7 – PRINCIPAIS BANDAS COM AS RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS DA CM-PPy

(continua)

Frequência (cm^{-1})	Atribuição
$\approx 3400 - 3200$	estiramento O-H celulósico
≈ 3100	estiramento C-H $_{\alpha}$ do pirrol
≈ 2900	estiramento assimétrico CH $_2$ e CH

(conclusão)

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuição
≈ 2850	estiramento simétrico CH ₂
≈ 1600	estiramento assimétrico C=C do pirrol
≈ 1400	estiramento assimétrico C=N do pirrol
≈ 1070	deformação angular C-H do pirrol
≈ 1050	absorção das ligações C-O-(H) do anel piranose
≈ 1015	estiramento C-N do pirrol
≈ 900	ligações β-glicosídicas da glicana
≈ 870	vibração =C-H para fora do plano do polipirrol

FONTE: A autora (2018).

3.4.5 Padronização do Método CM-PPy-SPE

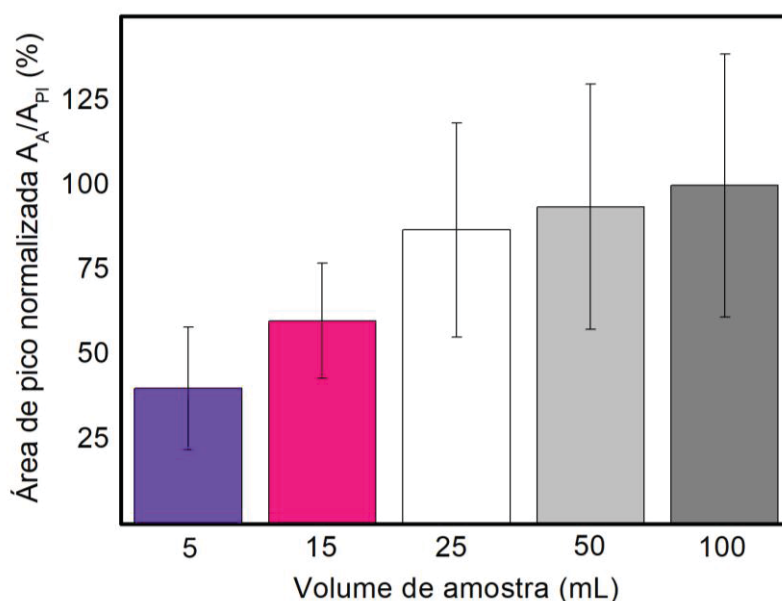
Após ter sido selecionada a membrana modificada com polipirrol de maior eficiência e estabilidade química e física, foram feitos estudos de otimização da CM-PPy-SPE. As variáveis do processo de SPE empregando a membrana de celulose modificada com polipirrol foram otimizadas dentro de algumas condições de compromisso selecionadas para obtenção da eficiência no processo de extração dos contaminantes com uma frequência analítica adequada.

As principais variáveis avaliadas durante a etapa de extração dos contaminantes de preocupação emergente utilizando membrana de celulose modificada com polipirrol (CM-PPy) foram: volume de amostra, pH e velocidade de vazão da amostra. Para dessorção foi avaliado apenas o volume de solvente. Acetona, acetato de etila e diclorometano degradaram o suporte de polycarbonato (*holder*) onde são dispostas as membranas. Apenas o metanol foi avaliado pois não degradou o *holder* e a celulose escolhida ao mesmo tempo em que dessorveu os analitos de forma quantitativa.

a) Volume de Amostra

Diferentes volumes de amostra foram submetidos ao processo SPME-CM-PPy. A área de pico dos analitos (A_A) foi dividida pela área de pico do PI bisfenol A-d₁₆ (A_{PI}) para corrigir eventuais flutuações instrumentais e efeito de matriz. De uma maneira geral, a soma das áreas de pico dos 12 analitos (atrazina e cafeína não foram detectados nesse modo: *full scan - split* 1:50 - obtidos com diferentes volumes avaliados) são ilustrados na FIGURA 3.18.

FIGURA 3.18 - AVALIAÇÃO DO VOLUME DE AMOSTRA PERCOLADO ($n = 3$), CONDIÇÕES: pH 4,0, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL



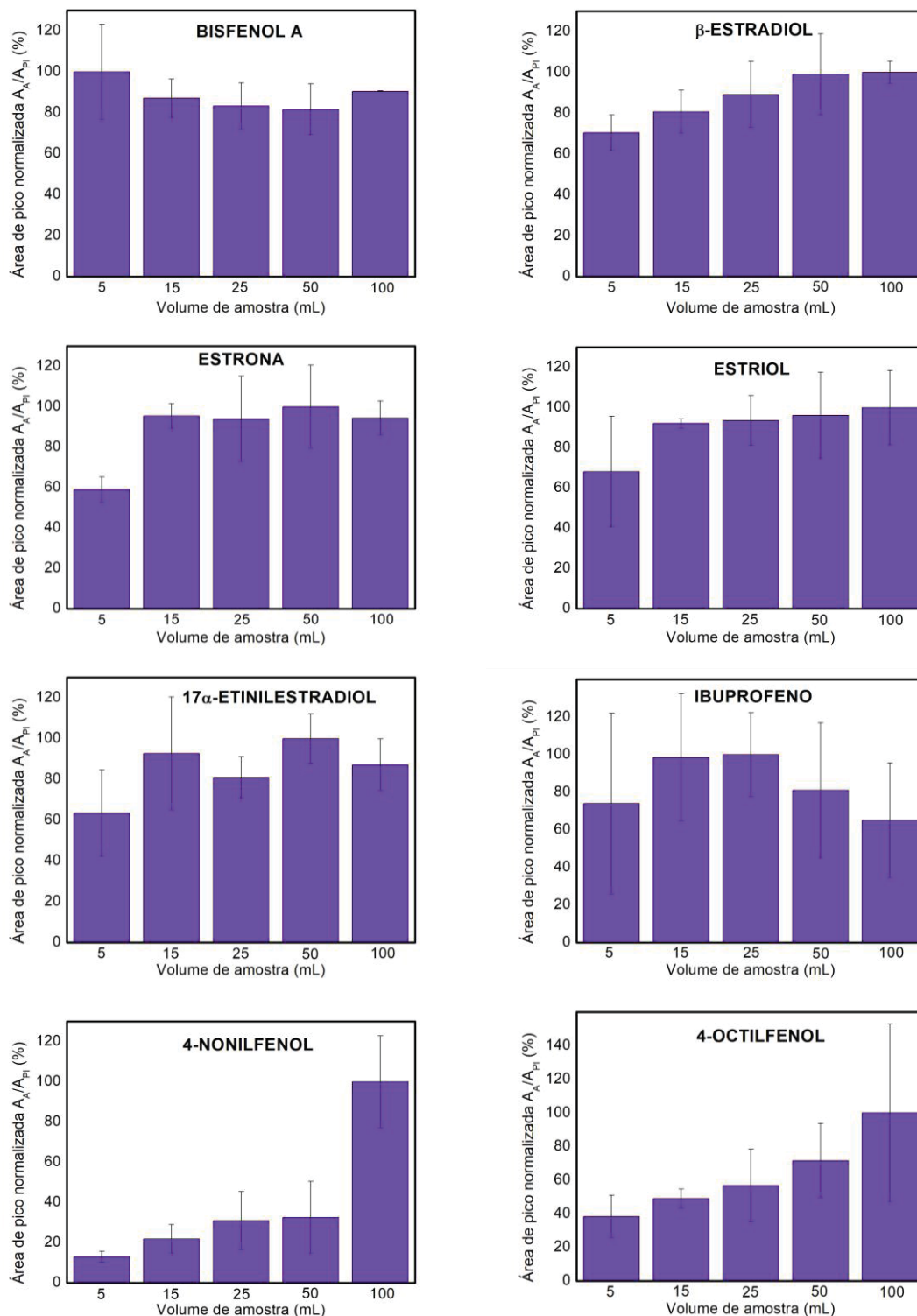
FONTE: A autora (2018).

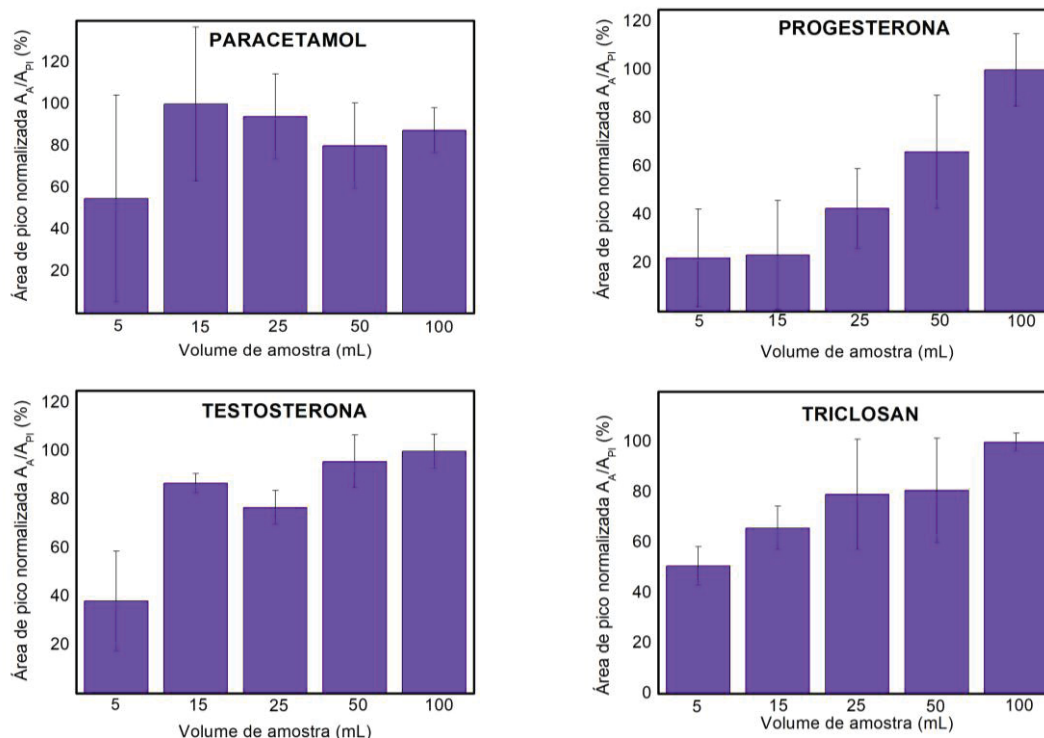
Como os picos dos analitos tem intensidades diferentes de acordo com sua resposta frente ao sistema de detecção, mesmo utilizando a mesma concentração para todos, fez-se necessário a avaliação da resposta com relação a este parâmetro para cada analito de forma separada.

Para a seleção do valor ótimo para a extração, foram priorizados os resultados para os analitos com área de pico de menores intensidades e o segundo critério foi o maior somatório das áreas de pico de todos analitos. O melhor resultado obtido então foi utilizando o volume de amostra de 100 mL, que provavelmente pode ter contribuído para um maior tempo de contato entre os analitos e a membrana, favorecendo as interações de sorção. Volumes maiores que 100 mL, são comumente utilizados em SPE mas, não foram avaliados para evitar um tempo excessivamente grande de percolação da amostra, o que poderia comprometer a frequência analítica do método proposto, já que com este volume escolhido obteve-se valores satisfatórios. Além disso, será possível verificar na etapa de avaliação dos parâmetros de mérito que, para este volume, foi possível atingir limites de quantificação compatíveis com aquelas concentrações de CECs em amostras de águas superficiais.

Na FIGURA 3.19, constam os resultados individuais para cada um dos analitos.

FIGURA 3.19 - OTIMIZAÇÃO SPE (VOLUME DE AMOSTRA) PARA TODOS ANALITOS. CONDIÇÕES: pH 4,0, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL (n = 3)





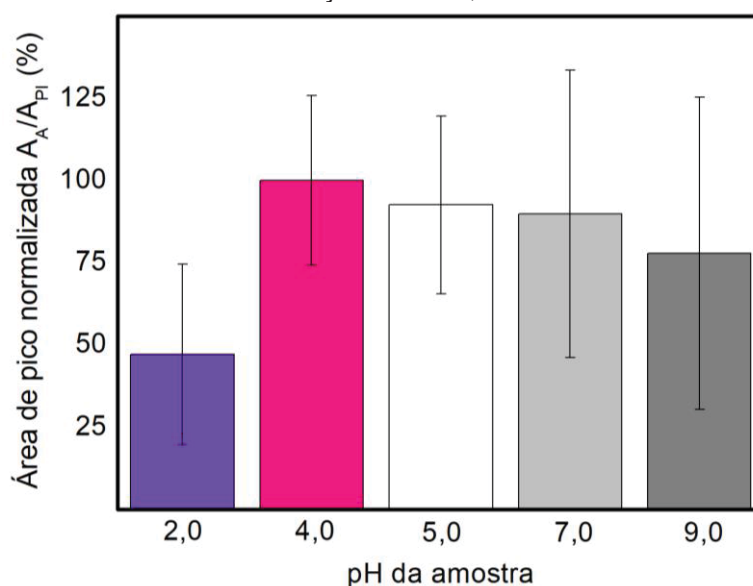
FONTE: A autora (2018).

A padronização interna é um método que pode ser utilizado nas análises quantitativas minimizando as incertezas, aumentando a precisão em termos de reprodutibilidade, como por exemplo, na injeção de pequenos volumes de amostras por diferentes analistas. Para a escolha de um PI, são necessárias algumas características como ser puro, não reagir com nenhum componente da amostra, boa resolução frente aos demais analitos (sem sobreposição de picos) e ser quimicamente similar ao analito (MCNAIR, MILLER, 2011). Foram testados 4 PIs (atrazina-d₅, ibuprofeno-d₃, bisfenol A-d₁₆ e estradiol-d₃), sendo que o bisfenol A-d₁₆ foi o que apresentou melhores resultados quanto aos pré-requisitos de escolha. Apesar desse PI ter ficado posicionado no meio da corrida cromatográfica, o ideal seria utilizar mais de uma substância que fosse similar as estruturas químicas dos 14 CECs e mais próximas quanto a distância dos mesmos na corrida cromatográfica. Podemos perceber, na FIGURA 3.19, menores estimativas de desvios padrão nas áreas de pico do analito bisfenol A, pois é o único que atende todas condições para uma boa escolha de PI.

b) pH da Amostra

Diferentes valores de pHs da amostra foram avaliados durante o processo CM-PPy-SPE, com intuito de avaliar a influência de possíveis ionizações dos analitos frente à interação com a fase extratora de PPy. De uma maneira geral, a soma das áreas dos 14 analitos obtidos com diferentes valores de pH avaliados são ilustrados na FIGURA 3.20.

FIGURA 3.20 - AVALIAÇÃO DO pH DA AMOSTRA (n = 3), CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL



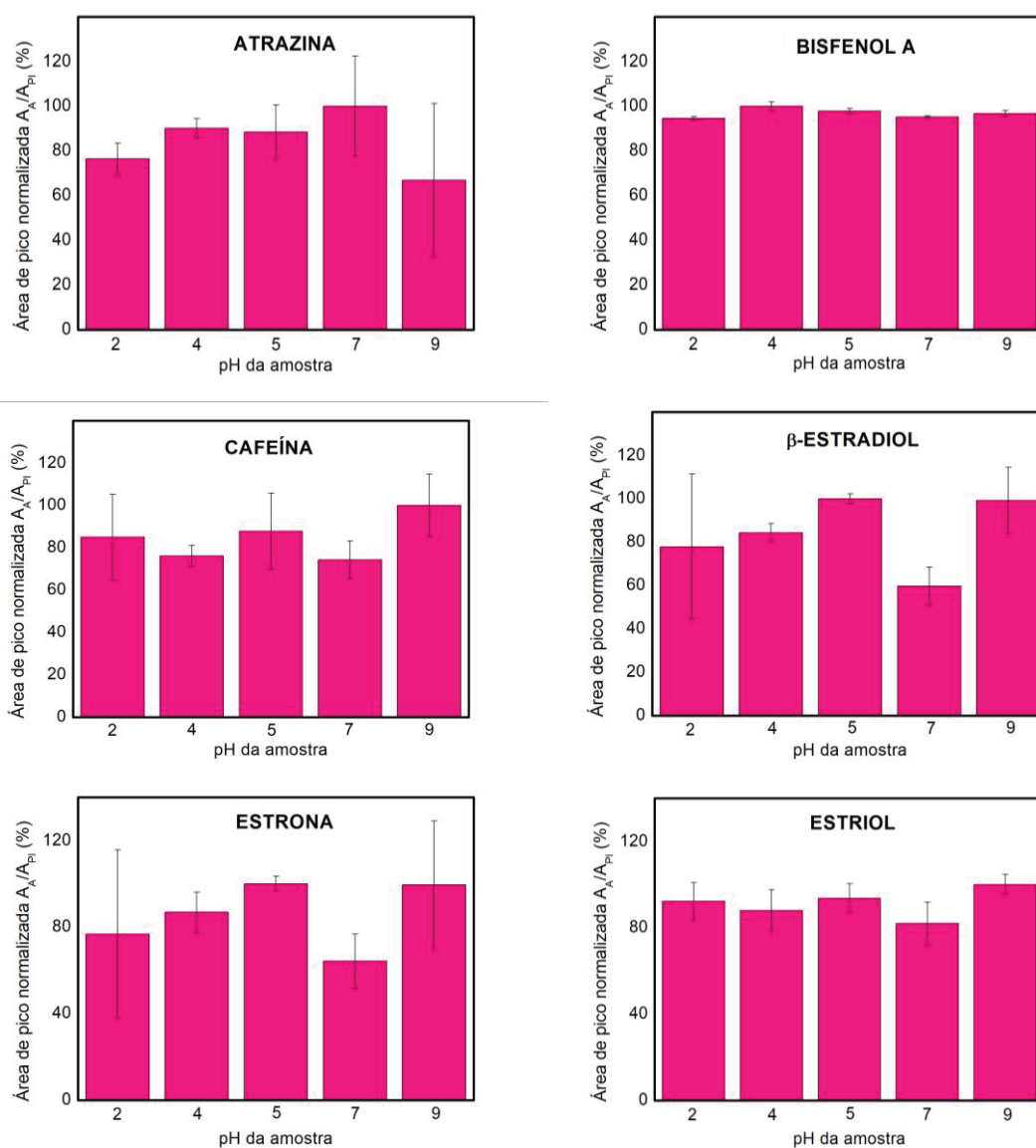
FONTE: A autora (2018).

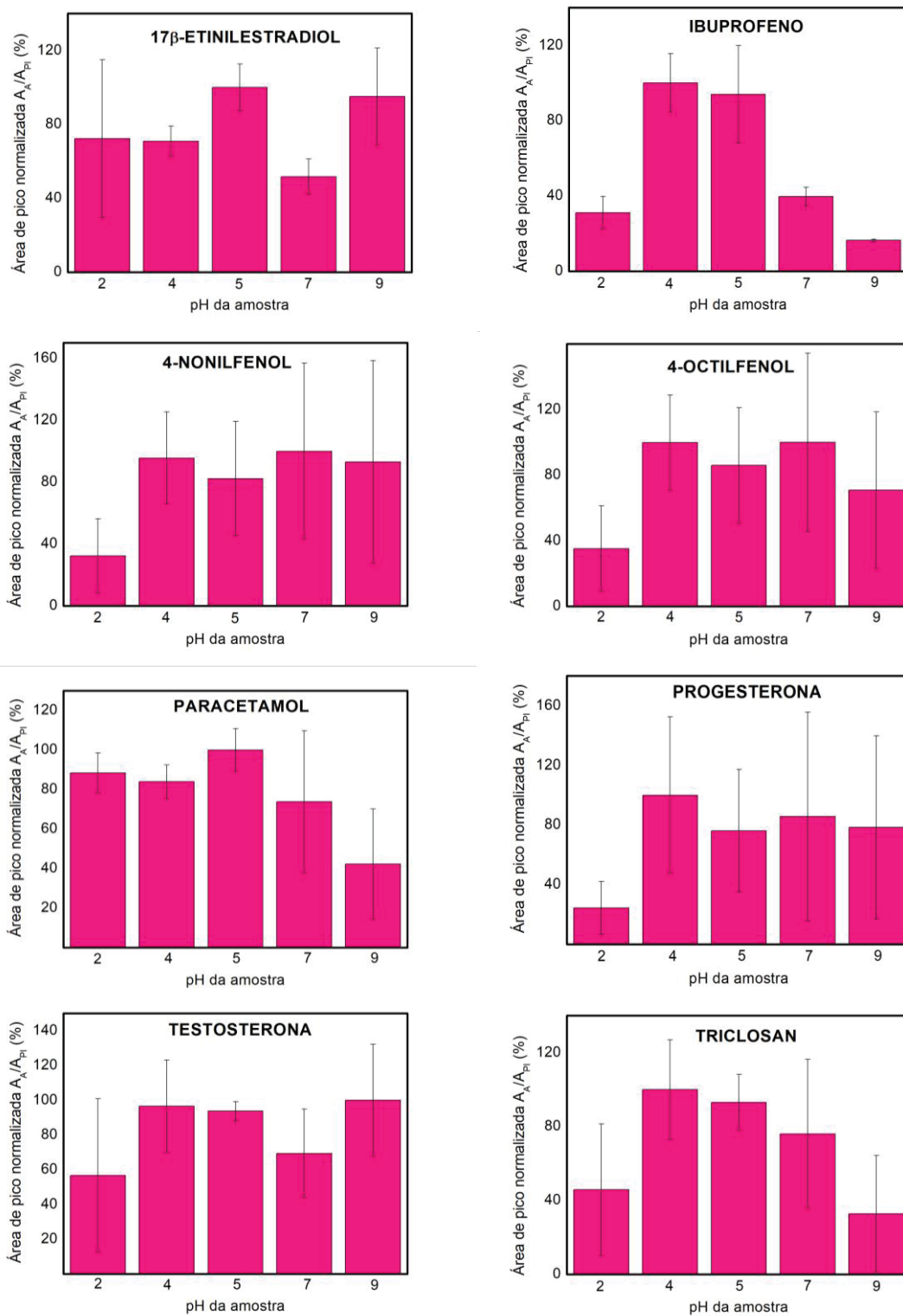
Em valores de pHs extremos, como o pH 2,0 e 9,0, a soma das áreas dos 14 analitos diminuem, mesmo que de forma sutil, a sorção dos analitos. Pouca variação em termos de eficiência de extração (área de pico) foi evidenciada quando a extração foi realizada em pH 4,0, 5,0, e 7,0. Levando-se em consideração os valores de pKa dos analitos (TABELA 1.2, CAPÍTULO 1), na região entre pH 4,0 e 7,0, todos os contaminantes de preocupação emergente estão na sua forma não-ionizada ou parcialmente ionizada, o que proporciona uma maior interação com a fase extratora de PPy pela menor solubilidade destes em comparação com as formas ionizadas, inclusive com uma possível maximização das interações do tipo ligação de hidrogênio. Porém, nota-se maiores desvios padrão com relação à triplicata para as amostras com pH 7,0, o que inviabiliza sua aplicação. Neste sentido, o pH da amostra selecionado foi 5,0, pois é mais próximo ao pH da amostra aquosa natural quando comparado ao pH

4,0, o que facilita o ajuste em termos de concentração hidrogenoiônica no meio antes da extração.

Na FIGURA 3.21 , são apresentados os resultados individuais para cada um dos analitos.

FIGURA 3.21 - OTIMIZAÇÃO SPE (pH DA AMOSTRA) PARA TODOS ANALITOS CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL (n = 3)





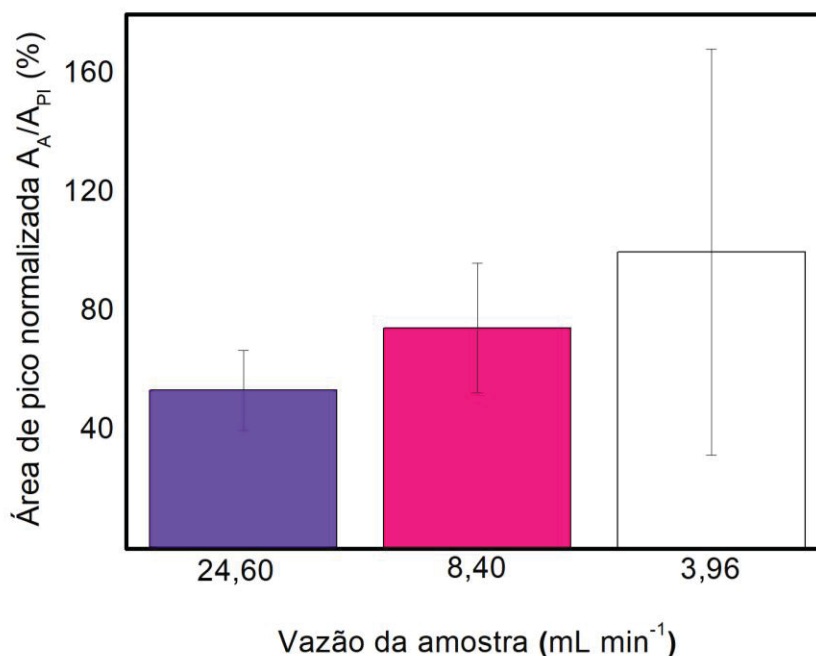
FONTE: A autora (2018).

c) Vazão de Eluição da Amostra

A vazão de eluição da amostra aquosa foi avaliada em três velocidades: $\approx 3,96 \text{ mL min}^{-1}$ (lenta), $\approx 8,40 \text{ mL min}^{-1}$ (média) e $\approx 24,6 \text{ mL min}^{-1}$ (rápida). A soma

das áreas de picos dos 14 analitos obtidos com diferentes valores de vazão avaliados é ilustrada na FIGURA 3.22.

FIGURA 3.22 - AVALIAÇÃO DA VAZÃO DA AMOSTRA AQUOSA ($n = 3$), CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, pH 5,0, E DESSORÇÃO COM 2,0 mL DE METANOL

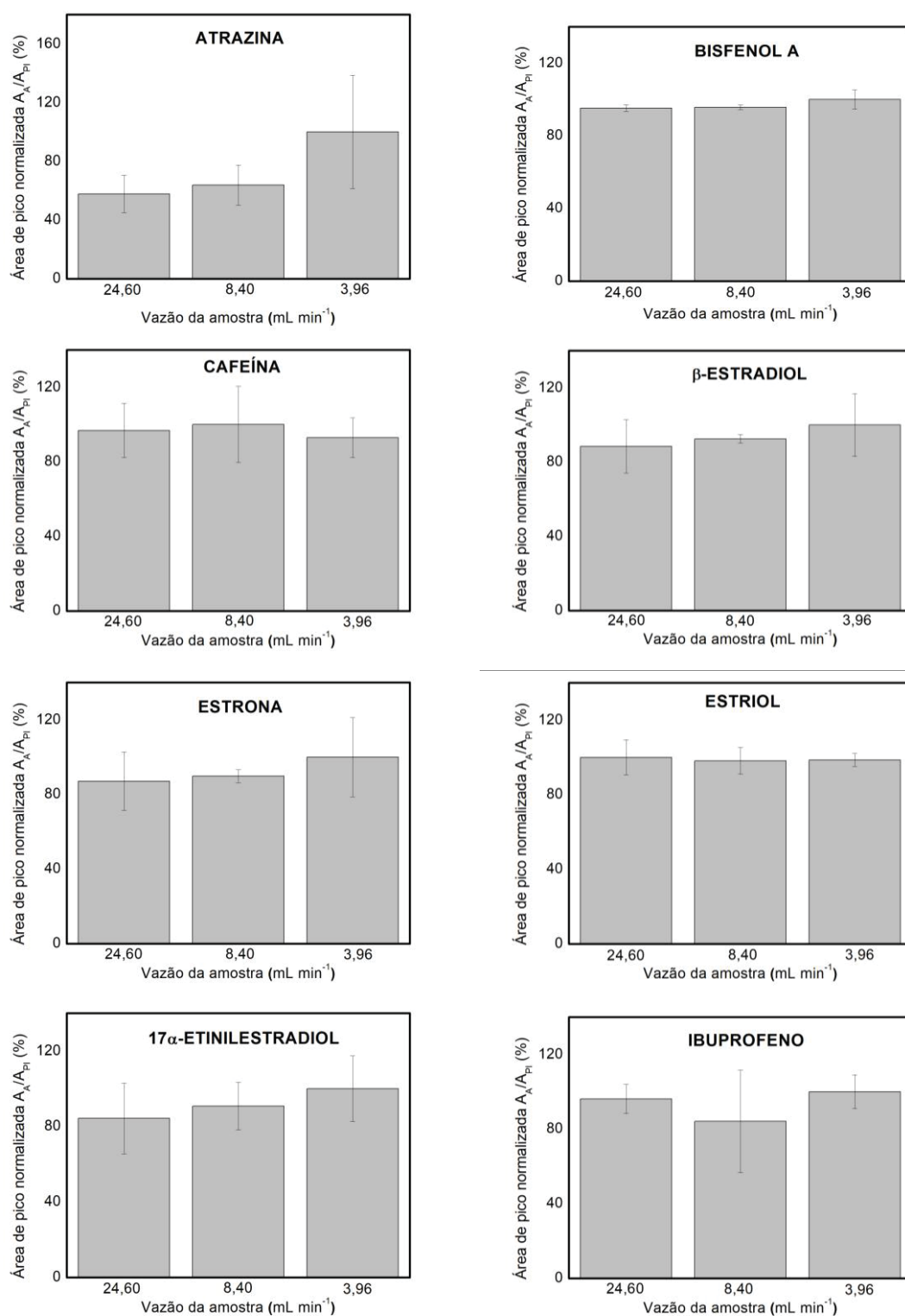


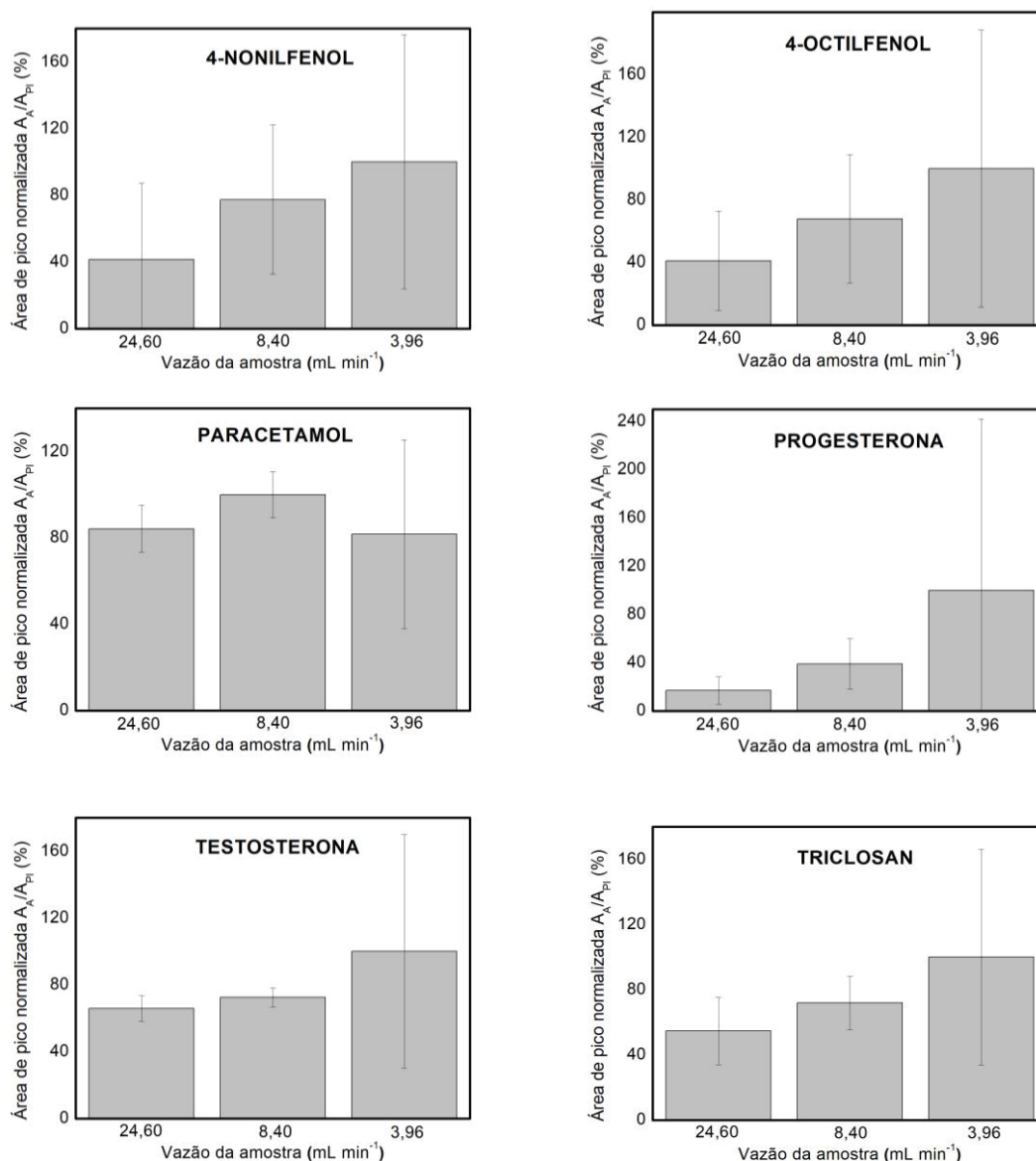
FONTE: A autora (2018).

Em termos de somatória de área de pico, a vazão média foi selecionada, pois garantiu resultados satisfatórios de extração ao mesmo tempo que contribuiu para menores valores de desvios padrão, especialmente quando comparada à vazão baixa. Tal resultado pode ser explicado pelo fato de que, em vazões baixas (neste caso $\approx 3,96 \text{ mL min}^{-1}$), o processo de dessorção pode ocorrer concomitantemente ao processo de extração acarretando em variações significativas com relação às interações entre analitos e fase extratora. Ainda, vazões altas ($\approx 24,60 \text{ mL min}^{-1}$), como evidenciado na FIGURA 3.22, diminuí consideravelmente o tempo de exposição dos analitos frente à fase extratora o que acarretou em menores eficiências de extração.

Na FIGURA 3.23, são apresentados os resultados individuais para cada um dos analitos.

FIGURA 3.23 - OTIMIZAÇÃO SPE (VAZÃO DA AMOSTRA)





FONTE: A autora (2018).

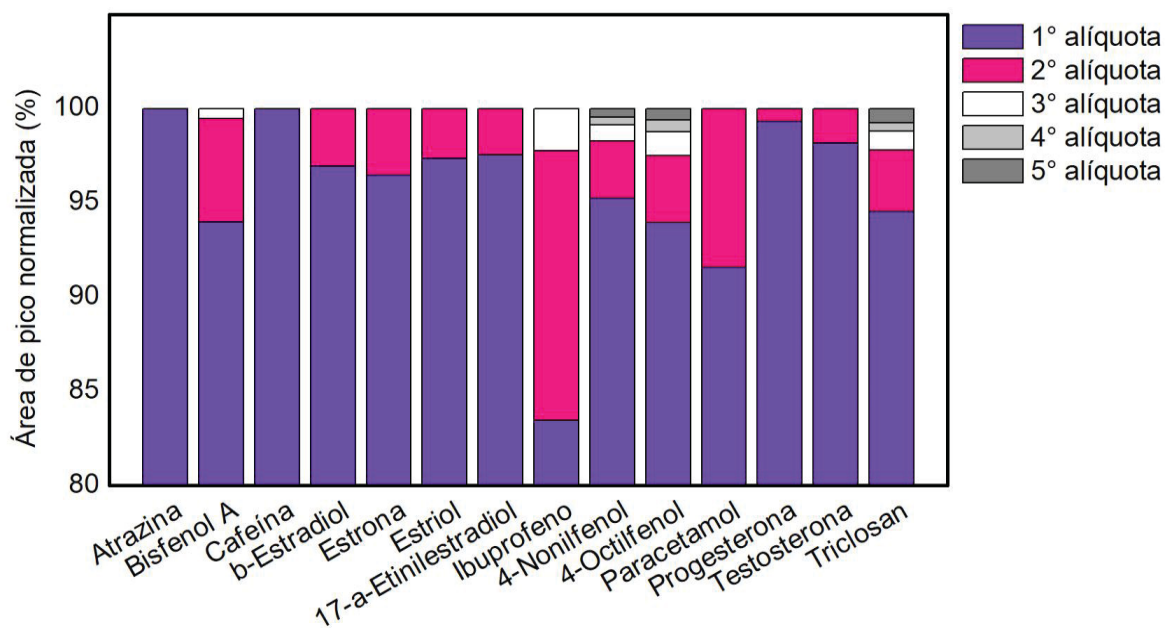
d) Volume de Solvente

Optou-se por não avaliar solventes diferentes do metanol, pois a grande maioria dos outros solventes orgânicos acabaram por danificar o suporte de policarbonato que acomoda a membrana de PPy.

Para avaliação do volume de solvente orgânico (metanol) na etapa de dessorção, 5 alíquotas de 1,0 mL cada foram utilizadas para dessorver os analitos pré-concentrados na CM-PPy utilizando 100,0 mL de amostra. Neste estudo, pode-se perceber que a utilização de apenas uma alíquota de 1,0 mL de metanol foi suficiente para dessorção quantitativa (acima de 90%) dos contaminantes de preocupação emergente, com exceção do fármaco Ibuprofeno, onde a dessorção

atingiu aproximadamente 83% de eficiência. Neste caso em específico, a utilização de uma segunda alíquota de 1,0 mL de metanol seria capaz de aumentar a eficiência de dessorção deste analito para níveis acima de 95%. Porém, levando-se em consideração a frequência analítica (menos tempo de evaporação de solvente) e no cuidado ambiental (uso de menor quantidade de solvente orgânico) optou-se pela utilização de volume de 1,0 mL de metanol para a etapa de dessorção (FIGURA 3.24).

FIGURA 3.24 - VOLUME DE SOLVENTE NECESSÁRIO PARA DESSORÇÃO, CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, pH 5,0, VAZÃO MÉDIA



FONTE: A autora (2018).

Comparando com outros trabalhos relatados na literatura, que utilizam volumes maiores de solventes orgânicos para dessorção, como por exemplo, 3 x 2,0 mL de metanol (cartucho Strata-X) (HILTON, THOMAS, 2003), 5 mL de acetato de etila (C₁₈) (SANTOS NETO, SIQUEIRA, 2005), 2 mL de acetonitrila e metanol 70:30 v/v (OASIS-MCX) (CASTRO et al., 2012) o método aqui proposto pode ser considerado mais viável em termos dos princípios da Química Analítica Verde.

Salting out não foi avaliado, pois nos primeiros testes uma quantidade excessiva de sal foi observada se depositando na membrana.

Em resumo, as condições de extração CM-PPy-SPE otimizadas foram: 100 mL de amostra aquosa ajustada para pH 5,0, percoladas em vazão média ($\approx 8,40 \text{ mL min}^{-1}$) e dessorção em etapa única com 1,0 mL de metanol.

3.4.6 Sorção da CM-PPy

Na TABELA 3.8 são apresentados a porcentagem de extração da membrana CM-PPy, a partir dos testes realizados ($n = 3$) como descrito no item 3.4.5. Capacidades de sorção entre 41,2% (4-octilfenol) e 92,1% (cafeína) foram observadas, indicando a potencialidade do processo de adsorção para a extração dos CECs avaliados neste trabalho. Sorção de compostos menos polares, como 4-nonilfenol, 4-octilfenol e progesterona, que possuem $\log K_{ow}$ elevados, apresentam menores capacidade de sorção pois as interações fortes do polímero, como as ligações de hidrogênio, não atuam efetivamente com esses analitos.

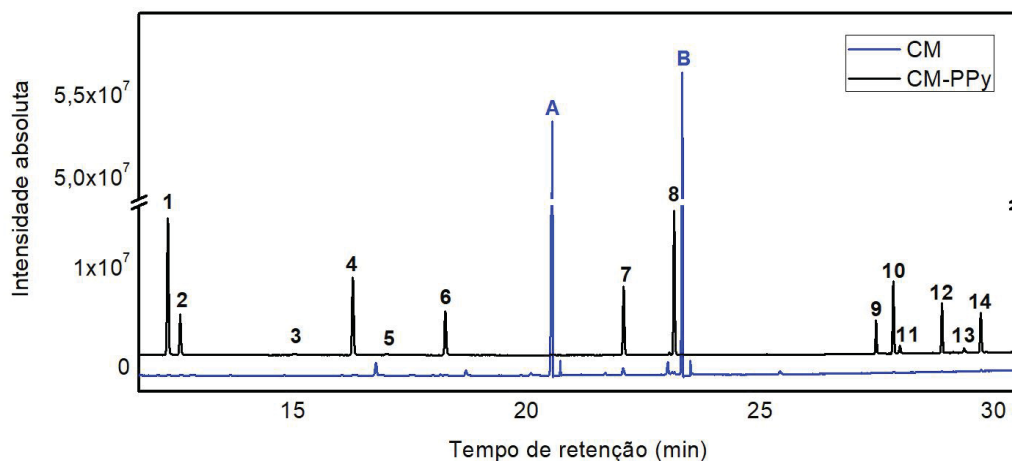
TABELA 3.8 – PORCENTAGEM DE EXTRAÇÃO DA CM-PPy

Analito	Sorção CM-PPy (%)
Atrazina	82,7
Bisfenol A	79,9
Cafeína	92,2
β -Estradiol	68,3
Estrona	71,1
Estriol	71,3
17- α -Ethinilestradiol	64,0
Ibuprofeno	87,7
4-Nonilfenol	43,4
4-Octilfenol	41,2
Paracetamol	65,5
Progesterona	43,7
Testosterona	65,1
Triclosan	53,9

FONTE: A autora (2018).

Na FIGURA 3.25, há um comparativo de extrações de contaminantes de preocupação emergente. Pode-se verificar que, na extração realizada com o branco da celulose, sem a modificação com o polímero, a maioria dos contaminantes não foi extraída, ou foram extraídos de forma não significativa. Além disso, picos intensos como os de ácido palmítico e ácido esteárico, provenientes de ácidos graxos que podem ser encontrados tanto em produtos de origem animal como vegetal, foram observados. Porém, tais picos de compostos endógenos da membrana de celulose não foram detectados quando utilizada a CM-PPy, inferindo que o polímero forma um filme protetor no material celulósico.

FIGURA 3.25 – COMPARAÇÃO ENTRE EXTRAÇÕES UTILIZANDO CELULOSE E CM-PPy



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (1) ibuprofeno.
 (2) paracetamol.
 (3) atrazina.
 (4) 4-octilfenol.
 (5) cafeína.
 (6) 4-nonilfenol.
 (7) triclosan.
 (PI) bisfenol A-d₁₆.
 (8) bisfenol A.
 (9) estrona.
 (10) β-estradiol.
 (11) testosterona.
 (12) 17α-etinilestradiol.
 (13) progesterona.
 (14) estriol.
 (A) ácido palmítico.
 (B) ácido esteárico.

3.4.7 Parâmetros de mérito

a) Curva analítica e Linearidade

Na construção das curvas analíticas utilizando a CM-PPy proposta, com ao menos 5 níveis de concentração, todos os analitos apresentaram coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,99 conforme a TABELA 3.9. A faixa linear para os compostos de interesse derivatizados variou de 0,05 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 100 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, dependendo da detectabilidade de cada analito. Quanto maior o coeficiente angular (termo “b” da equação da reta, *slope*) maior a sensibilidade do método para um determinado analito. Dos 14 contaminantes de preocupação emergente, a atrazina apresentou o menor coeficiente angular, consequentemente, menor sensibilidade. Analitos com maiores sensibilidades foram bisfenol A, β-estradiol, 4-nonilfenol, 4-octilfenol e triclosan. Por consequência, será possível discriminar

pequenas diferenças de área de pico para estes compostos, relacionando-as com pequenas variações nas concentrações reais encontradas em amostras de águas naturais.

TABELA 3.9 - PARÂMETROS DE MÉRITO ANALÍTICO DO MÉTODO CM-PPy-SPE-GC-MS

Analito	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	Equação da reta ($y = a + b \cdot x$)
Atrazina*	0,1 - 500	0,996	$y = 4,67 \times 10^{-4} + 4,72 \times 10^{-4} \cdot C_{ATZ}$
Bisfenol A	0,5 - 500	0,991	$y = 7,66 \times 10^{-2} + 1,48 \times 10^{-2} \cdot C_{BPA}$
Cafeína*	10 - 500	0,997	$y = -7,29 \times 10^{-3} + 1,62 \times 10^{-3} \cdot C_{CAF}$
β -Estradiol	0,1 - 500	0,996	$y = 2,04 \times 10^{-3} + 1,14 \times 10^{-2} \cdot C_{E2}$
Estrona	10 - 500	0,998	$y = 2,76 \times 10^{-2} + 5,75 \times 10^{-3} \cdot C_{E1}$
Estriol	0,1 - 500	0,999	$y = 3,16 \times 10^{-4} + 2,06 \times 10^{-3} \cdot C_{E3}$
17- α -Ethinilestradiol	0,05 - 500	0,996	$y = 2,53 \times 10^{-3} + 3,31 \times 10^{-3} \cdot C_{EE2}$
Ibuprofeno	0,5 - 500	0,994	$y = 7,63 \times 10^{-3} + 6,72 \times 10^{-3} \cdot C_{IBU}$
4-Nonilfenol	0,5 - 100	0,996	$y = 3,16 \times 10^{-1} + 3,86 \times 10^{-2} \cdot C_{4NP}$
4-Octilfenol	0,5 - 500	0,999	$y = 3,10 \times 10^{-1} + 4,59 \times 10^{-2} \cdot C_{4OP}$
Paracetamol	10 - 500	0,991	$y = -8,83 \times 10^{-3} + 1,17 \times 10^{-3} \cdot C_{APAP}$
Progesterona*	1 - 500	0,992	$y = 5,43 \times 10^{-3} + 1,73 \times 10^{-3} \cdot C_{PRO}$
Testosterona	10 - 500	0,995	$y = 1,47 \times 10^{-2} + 2,16 \times 10^{-3} \cdot C_{TES}$
Triclosan	0,5 - 500	0,991	$y = 5,42 \times 10^{-2} + 1,44 \times 10^{-2} \cdot C_{TCS}$

FONTE: A autora (2018).

NOTA: na equação da reta, o termo $y = (A_A/A_{PI})$.

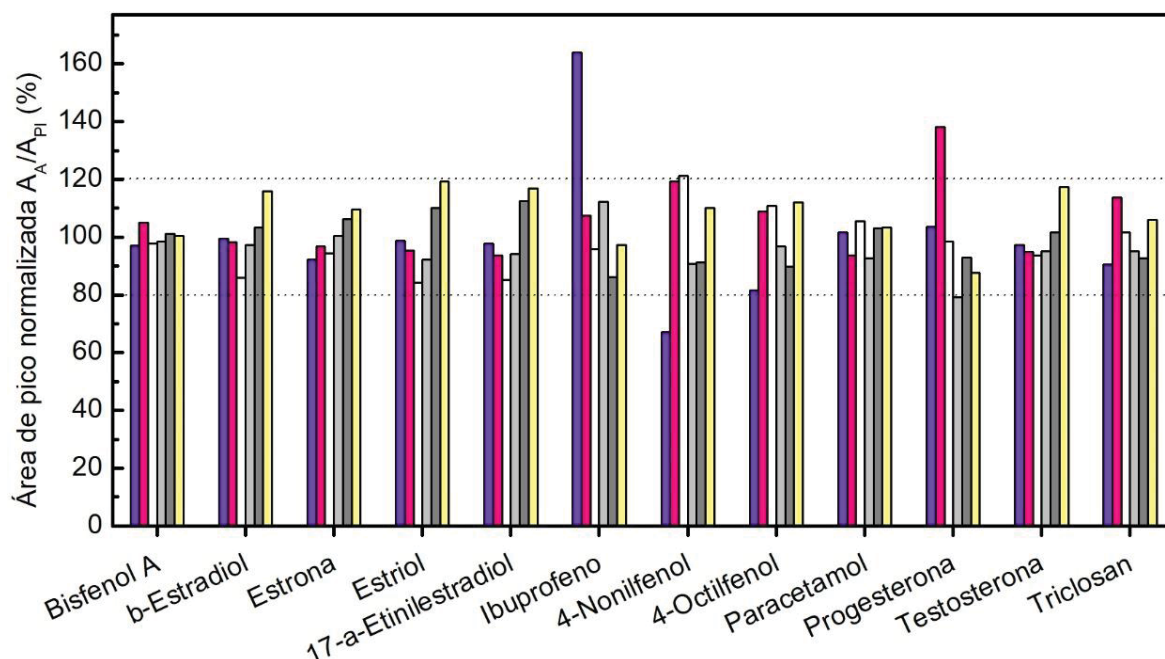
LEGENDA: *Analitos não derivatizados.

b) Repetibilidade e Reprodutibilidade

A precisão reflete a concordância entre os resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Pode ser expressa como desvio padrão relativo (RSD) que é igual ao coeficiente de variação (CV) de uma série de medidas (ANVISA, 2017).

Para o teste de repetibilidade, uma mesma membrana de PPy foi utilizada em 6 extrações consecutivas, adicionando-se uma etapa de limpeza entre as mesmas para evitar efeito de memória. De acordo com a FIGURA 3.26, pode-se inferir que a membrana de celulose modificada com PPy pode ser reutilizada diversas vezes, por fornecer uma faixa satisfatória.

FIGURA 3.26 – REPETIBILIDADE DA CM-PPy-SPE (n=6), CONDIÇÕES: 100 mL DE AMOSTRA, pH 5,0, VAZÃO MÉDIA E DESSORÇÃO COM 1,0 mL DE METANOL



FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: cada cor representa uma CM-PPy diferente (n = 6).

Neste caso, para a maioria dos compostos as variações entre as 6 replicatas ficaram em intervalo entre 80 e 120% (área normalizada). Destaque pode ser dado a 6 dos 12 compostos detectáveis que apresentaram desvios padrão abaixo de 10%: bisfenol A, β -estradiol, estrona, paracetamol, testosterona e triclosan. Estriol, 17- α -etinilestradiol e 4-octilfenol apresentaram desvios padrão abaixo de 20% e apenas 3 analitos (ibuprofeno, 4-nonilfenol e progesterona), apresentaram baixa precisão, com desvios padrão acima de 20%. Cafeína e atrazina não foram novamente detectados nesse estudo (modo de análise *full scan*, *split* 1:20), por este motivo os dois analitos foram quantificados no modo *SIM* para os ensaios de reprodutibilidade. Apesar de alguns analitos apresentarem baixa precisão, a viabilidade de reutilização da fase extratora e, portanto, do dispositivo SPE, é promissora, o que impulsiona maior estudo a respeito da reprodutibilidade da síntese da membrana de PPy a fim de se alcançar repetibilidade em um maior número de reutilizações da membrana para todos os analitos deste trabalho.

A ANVISA recomenda que em matrizes biológicas o RSD esteja abaixo de 15%. Levando-se em consideração à complexidade de amostras aquosas, em especial na determinação em espécies em concentração em nível traço, neste

trabalho foram considerados aceitáveis RSD abaixo de 20% para o LOQ e abaixo de 15% para os demais pontos da curva analítica.

Na TABELA 3.10, é possível perceber, para a maioria dos contaminantes de preocupação emergente, os coeficientes de variação no intra-ensaio ficaram mais baixos quando comparado ao inter-ensaio. Isso pode ser justificado pelas condições do equipamento, GC-MS, durante esses testes. O principal fator das diferenças e valores altos do RSD foi o filamento do espectrômetro de massas (consumível \approx 1000h de uso). Quando feito as sorções no mesmo dia, o equipamento encontrava-se nas mesmas condições para todas as análises. Nos inter-ensaios as análises foram feitas em condições diferentes, algumas análises foram feitas com filamento novo, onde a sensibilidade é mais alta e consequentemente os picos cromatográficos são mais intensos quando comparado a análises utilizando filamento com suas horas de uso elevadas, diminuindo a sensibilidade. Por outro lado, estas possíveis variações instrumentais garantem, de certa forma, a robustez do método analítico proposto, ao mesmo tempo em que os valores de RSD (%) foram menores que 20% para o LOQ e 15% para as demais concentrações para a maioria dos analitos.

TABELA 3.10 – ESTUDOS DE INTRA E INTER ENSAIO

Analitos	Intra ensaio - RSD (%); n=3			Inter ensaio - RSD (%); n=3		
	LOQ	10 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ	10 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$
Atrazina	16,86	4,83	14,72	14,67	7,13	13,82
Bisfenol A	8,53	14,73	3,00	7,66	12,95	10,56
Cafeína*	6,48	4,92*	9,57	7,67	17,84*	4,85
β -Estradiol	6,53	5,98	4,51	13,46	8,61	9,58
Estrona*	10,13	6,07	6,38	11,39	16,26	6,18
Estriol	13,52	4,15	5,47	10,98	12,94	7,11
17- α -Ethinilestradiol	8,81	6,94	8,62	7,22	11,32	13,89
Ibuprofeno	3,36	14,73	10,83	14,05	13,42	14,25
4-Nonilfenol	4,40	7,42	7,41	7,29	10,66	13,72
4-Octilfenol	10,55	14,31	11,40	17,45	10,05	2,89
Paracetamol*	9,76	3,78*	11,03	11,02	16,08*	11,30
Progesterona	14,09	14,71	14,05	14,08	15,32	12,47
Testosterona*	6,29	10,38*	11,39	15,62	18,96*	11,39
Triclosan	6,96	5,77	10,49	4,45	12,97	7,19

FONTE: A autora (2018).

NOTA: *Para os analitos cafeína, estrona, paracetamol e testosterona: LOQ de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ e ponto intermediário de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$.

c) Exatidão

A exatidão é calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou como a diferença percentual entre

as médias e o valor verdadeiro aceito, acrescida dos intervalos de confiança (ANVISA, 2017).

Na TABELA 3.11 estão os valores de exatidão para os 14 CECs em três diferentes concentrações. Segundo a *AOAC International* (HORWITZ, 2000), o critério de aceitação para concentrações entre $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ e $10 \mu\text{g L}^{-1}$ para ser considerado um método exato, a recuperação média deve ficar entre valores de 60 a 115%. Foram considerados satisfatórios os valores de todos analitos, já que valores de exatidão permaneceram na faixa entre 83,35% a 115,64%.

TABELA 3.11 – ESTUDOS DE EXATIDÃO (n=3)

Analitos	Exatidão		
	LOQ	$10 \mu\text{g L}^{-1}$	$100 \mu\text{g L}^{-1}$
Atrazina	108,62	83,35	102,90
Bisfenol A	97,48	108,65	103,64
Cafeína*	101,17	90,00	99,72
β -Estradiol	96,83	106,45	108,02
Estrona*	98,78	104,62	95,21
Estriol	107,59	108,46	103,60
17- α -Ethinilestradiol	105,74	79,94	93,04
Ibuprofeno	87,29	100,40	85,30
4-Nonilfenol	102,95	98,43	105,17
4-Octilfenol	91,63	107,65	99,60
Paracetamol*	107,25	97,30	115,64
Progesterona	94,80	105,49	88,50
Testosterona*	102,13	101,50	104,20
Triclosan	97,27	115,26	97,17

FONTE: A autora (2018).

NOTA: *Ponto intermediário dos analitos, cafeína, estrona, paracetamol e testosterona dentro da faixa linear, foi selecionado $25 \mu\text{g L}^{-1}$.

d) Limite de Quantificação (LOQ)

Na TABELA 3.12, estão apresentados os valores de LOQ para todos os analitos. Para tal, foi considerada a menor concentração em que o coeficiente de variação (CV) não ultrapassasse o valor de 20% (n=4), o que representa o nível de concentração passível de ser quantificada com precisão e exatidão.

TABELA 3.12 – LOQ DO MÉTODO CM-PPy-SPE-GC/MS

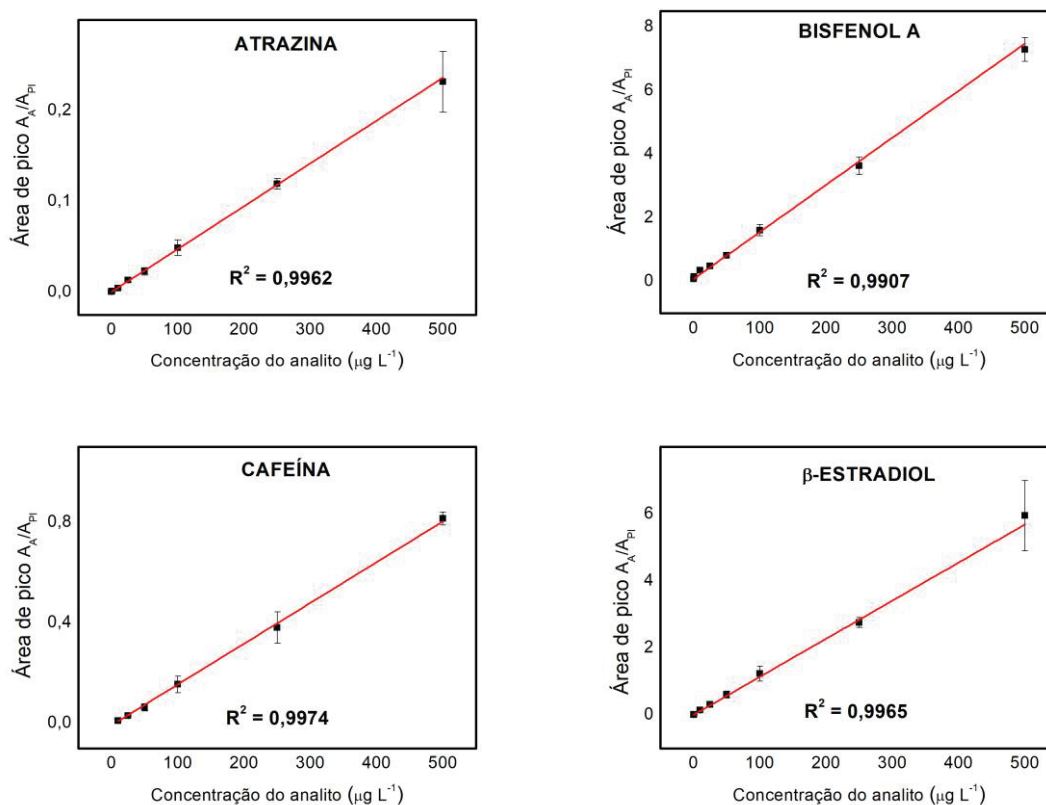
Analito	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	(continua)
		Precisão (%) n=4
Atrazina	0,10	14,67
Bisfenol A	0,50	7,66
Cafeína	10,00	7,67
β -Estradiol	0,10	13,46
Estrona	10,00	11,39
Estriol	0,10	10,98

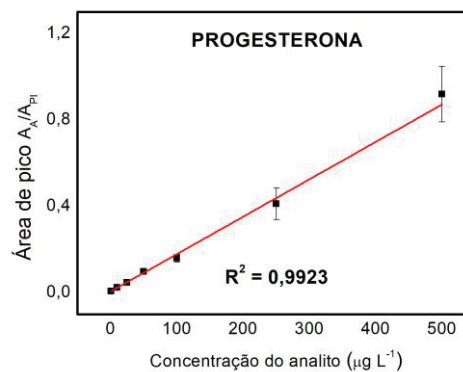
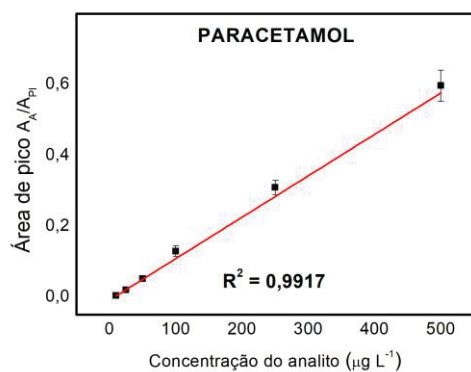
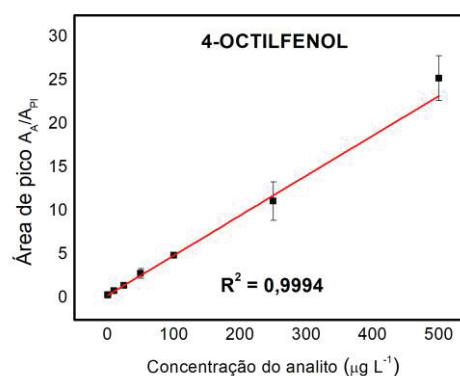
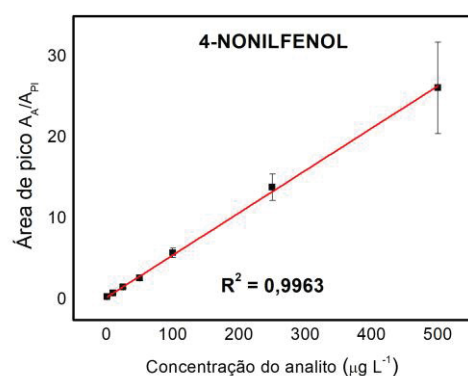
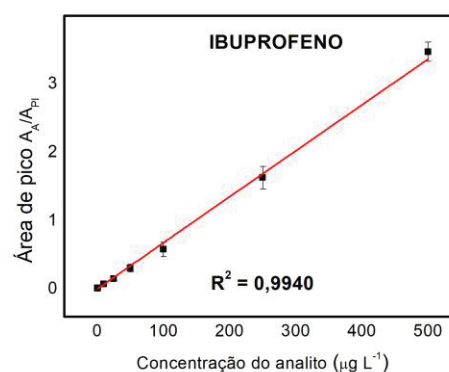
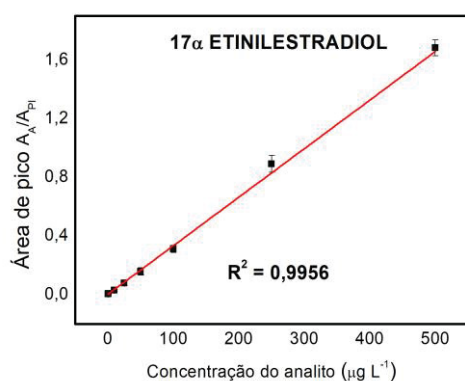
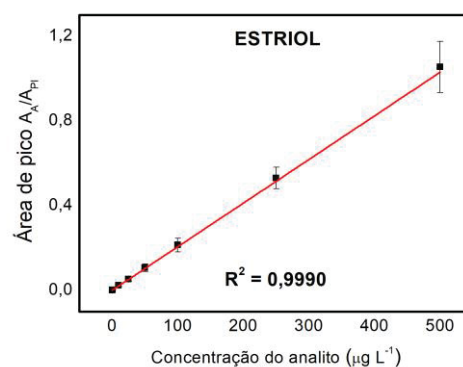
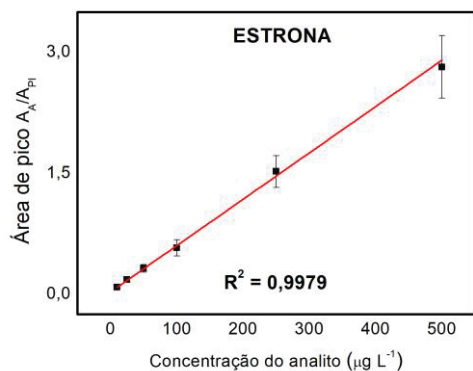
Analito	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	(conclusão)
		Precisão (%) n=4
17- α -Ethinilestradiol	0,05	7,22
Ibuprofeno	0,50	14,05
4-Nonilfenol	0,50	7,29
4-Octilfenol	0,50	17,45
Paracetamol	10,00	11,02
Progesterona	1,00	14,08
Testosterona	10,00	15,62
Triclosan	0,50	4,45

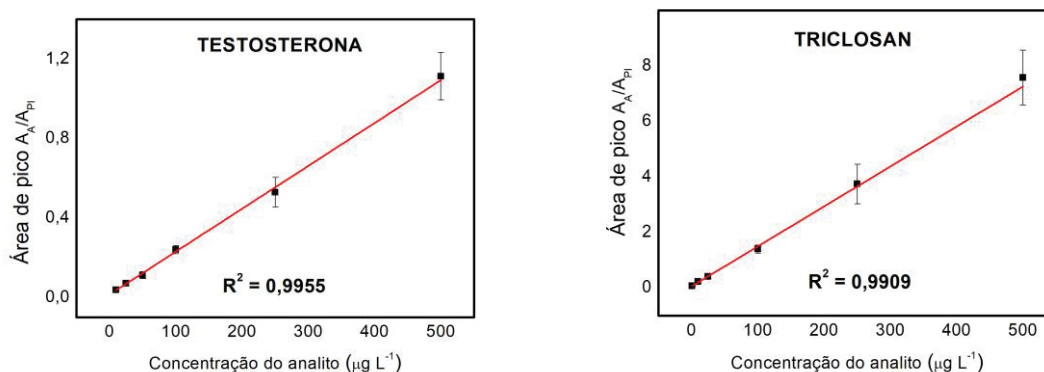
FONTE: A autora (2018).

Na FIGURA 3.27 constam as curvas analíticas de todos analitos. Para os CECs com maiores LOQs ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) as sensibilidades dos analitos cafeína e paracetamol foram baixas utilizando a CM-PPy para sorção desses analitos. A cafeína é uma molécula não passível de derivatização aumentando a dificuldade de detectabilidade no sistema de GC-MS. Já os hormônios estrona e testosterona possuem uma sensibilidade razoável em comparação com os demais, porém os RSD dos menores pontos das concentrações testadas foram maiores que 20% sendo assim foram desconsiderados.

FIGURA 3.27 – CURVAS ANALÍTICAS DE TODOS OS ANALITOS







FONTE: A autora (2018).

Com relação à detectabilidade do método proposto, em águas superficiais no Brasil, foi encontrado bisfenol A na concentração de $1,76 \mu\text{g L}^{-1}$, 17α -etinilestradiol à $0,31 \mu\text{g L}^{-1}$, paracetamol à $0,84 \mu\text{g L}^{-1}$ e cafeína à $41,7 \mu\text{g L}^{-1}$ (SODRÉ et al., 2007). Ibuprofeno $22,3 \mu\text{g L}^{-1}$, estrona $3,5$ a $5 \mu\text{g L}^{-1}$, progesterona $1,4$ a $4,2 \mu\text{g L}^{-1}$ e nonilfenol $0,044$ a $1,918 \mu\text{g L}^{-1}$ (AQUINO, BRANDT, CHERNICHARO, 2013).

Uma pesquisa nacional nos anos de 2011/2012 de CECs em águas (água potável e 2 mananciais de abastecimento em regiões populosas) contemplou 22 capitais brasileiras. As classes de CECs abordadas incluem hormônios, plastificantes, herbicidas, triclosan e cafeína. As concentrações de cafeína na água potável variaram de $1,8 \text{ ng L}^{-1}$ a valores acima de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$, nos mananciais variaram de 40 ng L^{-1} a cerca de $19 \mu\text{g L}^{-1}$. Para a atrazina, as concentrações foram encontradas na faixa de $2,0$ a $6,0 \text{ ng L}^{-1}$ em água potável e em concentrações de até 15 ng L^{-1} em mananciais (MACHADO et al., 2016).

Frente a essas concentrações encontradas em amostras reais, descritas previamente na literatura, o dispositivo CM-PPy tem potencial para a extração desses contaminantes em amostras de rio e quantificação em nível traço.

3.4.8 Aplicação do Método Proposto

O rio Belém é um dos principais rios de Curitiba, área da bacia de $87,80 \text{ km}^2$ tendo $17,13 \text{ km}$ de extensão e 46 afluentes. A bacia hidrográfica do rio Belém é considerada urbana, por consequência sofre desequilíbrios ambientais por não possuir uma infraestrutura adequada de esgotamento sanitário, ocupações irregulares principalmente nas margens da nascente e foz, descarte inadequado

de lixo em todo percurso, desmatamento e alterações na forma original do rio, como o confinamento do seu leito e a impermeabilização do solo (IPPUC, 2007).

Para comprovar a aplicabilidade do método CM-PPy-SPE-GC-MS otimizado, foram analisadas amostras de águas coletadas do Rio Belém (Curitiba-PR). Os resultados são ilustrados na TABELA 3.13, sendo possível ser quantificados 3 dos CECs avaliados neste trabalho, sendo eles: bisfenol A, cafeína e paracetamol. Outros analitos em pontos diferentes de amostragem foram detectados, mas em nível de concentração abaixo do estabelecido pelo LOQ.

TABELA 3.13 - DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES UTILIZANDO O MÉTODO CM-PPy-SPE-GC-MS DESENVOLVIDO

Pontos amostrais	Barreirinha	São Lourenço	Boqueirão
Analitos	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
Atrazina	-	-	-
Bisfenol A	6,39	<LOQ	<LOQ
Cafeína	-	-	17,83
β -Estradiol	-	<LOQ	-
Estrona	-	-	<LOQ
Estriol	-	-	-
17- α -Ethinilestradiol	-	-	<LOQ
Ibuprofeno	-	<LOQ	<LOQ
4-Nonilfenol	<LOQ	<LOQ	<LOQ
4-Octilfenol	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Paracetamol	-	<LOQ	19,28
Progesterona	-	<LOQ	<LOQ
Testosterona	-	-	-
Triclosan	<LOQ	<LOQ	<LOQ

FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: - : não detectado.

<LOQ: detectado, mas não quantificado.

Na nascente do rio, analitos como 4-nonilfenol, 4-octilfenol e triclosan foram encontrados abaixo do limite de quantificação. Estes compostos são encontrados em alguns produtos de limpeza, incluindo sabões e detergentes. O bisfenol A foi encontrado na concentração de $6,39 \text{ ng mL}^{-1}$. Bisfenol A é um disruptor endócrino que imita os hormônios do corpo e pode causar efeitos negativos para a saúde (VOM SAAL, MYERS, 2008). À medida que o leito do rio tem uma descarga de esgoto maior não tratada, mais contaminantes de preocupação emergente são encontrados no rio. Foram detectados onze dos quatorze CECs estudados, sendo possível quantificar cafeína e paracetamol em níveis de concentração de 17,83 e $19,28 \text{ ng mL}^{-1}$, respectivamente. Ressalta-se que estes dois compostos são

indicadores de contaminação sem necessariamente ter efeitos tóxicos associados à exposição sob baixos níveis de concentração (ANDREU et al., 2016; KURISSERY, 2012).

3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a impossibilidade da sorção de CECs utilizando PPy-SPME com controle eletroquímico, outra configuração de dispositivo foi proposta utilizando a potencialidade do PPy para fases extratoras.

Sintetizou-se membranas de celulose modificadas com filmes de polipirrol (CM-PPy), quimicamente polimerizados, como fase extratora para SPE em disco na determinação de CECs em matrizes aquosas via GC-MS.

A nova fase foi caracterizada por SEM/EDX e FTIR-ATR confirmando a modificação da celulose com PPy. O método SPE em disco proposto foi otimizado quanto ao pH da amostra, vazão, volume da amostra e volume de solvente de dessorção.

As condições cromatográficas garantiram eficiência e resolução satisfatórias para a determinação dos 14 CECs estudados em termos de resolução, eficiência e tempo total de análise.

Os parâmetros de mérito foram avaliados indicando a potencialidade da fase extratora desenvolvida, tanto em termos de eficiência quando no que se refere ao baixo custo, economia de solvente orgânico, possibilidade de reutilização da membrana e robustez do dispositivo.

O método CM-PPy-SPE/GC-MS foi aplicado em amostras de água do rio Belém (Curitiba-PR) e foram detectados e quantificados CECs, evidenciando a importância de monitoramento de bacias hidrográficas em regiões metropolitanas e a viabilidade de aplicação do dispositivo CM-PPy-SPE desenvolvido neste projeto para este fim.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLHOSSEINI, S., GHIASVAND, A., HEIDARI, N., A high area, porous and resistant platinized stainless steel fiber coated by nanostructured polypyrrole for direct HS-SPME of nicotine in biological samples prior to GC-FID quantification. **Journal of Chromatography B**, 1061-1062, 5-10, 2017.

ABUJABER, F., ZOUGAGH, M., JODEH, S., RÍOS, Á., GUZMÁN BERNARDO, F. J., RODRÍGUEZ MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C., Magnetic cellulose nanoparticles coated with ionic liquid as a new material for the simple and fast monitoring of emerging pollutants in waters by magnetic solid phase extraction. **Microchemical Journal**, 137, 490-495, 2018.

AHMADI, S. H., MANBOHI, A., HEYDAR, K. T., Electrochemically controlled in-tube solid phase microextraction. **Analytica Chimica Acta**, 853, 335-341, 2015.

ALLEN, N. S., MURRAY, K. S., FLEMING, R. J., SAUNDERS, B. R., Physical properties of polypyrrole films containing trisoxalatometallate anions and prepared from aqueous solution. **Synthetic Metals**, 87, 237-247, 1997.

ANDREU, V., GIMENO-GARCÍA, E., PASCUAL, J. A., VAZQUEZ-ROIG, P., PICÓ, Y., Presence of pharmaceuticals and heavy metals in the waters of a Mediterranean coastal wetland: Potential interactions and the influence of the environment. **Science of The Total Environment**, 540, 278-286, 2016.

ANVISA. RDC nº 166/2017, Guia para validação de métodos analíticos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acessado em: 10/11/2018

AQUINO, S. F. D., BRANDT, E. M. F., CHERNICHARO, C. A. D. L., Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, 18, 187-204, 2013.

ARCHANA, G., DHODAPKAR, R., KUMAR, A., *Offline solid-phase extraction for preconcentration of pharmaceuticals and personal care products in environmental water and their simultaneous determination using the reversed phase high-performance liquid chromatography method.* (2016), vol. 188.

ATEH, D., NAVSARIA, H., VADGAMA, P., Polypyrrole-based conducting polymers and interactions with biological tissues. **Journal of the royal society interface**, 3, 741-752, 2006.

AZIZ-ZANJANI, M. O., MEHDINIA, A., Electrochemically prepared solid-phase microextraction coatings—a review. **Analytica Chimica Acta**, 781, 1-13, 2013.

BAGHERI, H., AYAZI, Z., NADERI, M., Conductive polymer-based microextraction methods: a review. **Analytica Chimica Acta**, 767, 1-13, 2013.

BAGHERI, H., SARAJI, M., Conductive polymers as new media for solid-phase extraction: isolation of chlorophenols from water sample. **Journal of Chromatography A**, 986, 111-119, 2003.

BAPTISTA, A. C., BORGES, J. P., FERREIRA, I., Produção de Biobaterias a partir de Membranas obtidas pela Técnica de Electrofiação. **Ciência & Tecnologia dos Materiais**, 22, 2-13, 2010.

BASHEER, C., JAYARAMAN, A., KEE, M. K., VALIYAVEETIL, S., LEE, H. K., Polymer-coated hollow-fiber microextraction of estrogens in water samples with analysis by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1100, 137-143, 2005.

BASHEER, C., WANG, H., JAYARAMAN, A., VALIYAVEETIL, S., LEE, H. K., Polymer-coated hollow fiber microextraction combined with on-column stacking in capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, 1128, 267-272, 2006.

BECKER, R. W. **Determinação de anti-inflamatórios em efluente urbano na região de Porto Alegre-RS por SPE, derivatização e GC-MS**, 2012. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BEDOUX, G., ROIG, B., THOMAS, O., DUPONT, V., LE BOT, B., Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, 19, 1044-1065, 2012.

BEINEKE, A., SIEBERT, U., WOHLSEIN, P., BAUMGÄRTNER, W., Immunology of whales and dolphins. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 133, 81-94, 2010.

BENDIKOV, T. A., KIM, J., HARMON, T. C., Development and environmental application of a nitrate selective microsensor based on doped polypyrrole films. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 106, 512-517, 2005.

BERENICE ANINA DEDAVID, C. I. G. G. M., *Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. (Edipucrs, 2007).

BIDAN, G., in *Electropolymerization*. (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010), pp. 1-26.

BILA, D. M., DEZOTTI, M., Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, 30, 651-666, 2007.

BLAIR, B. D., CRAGO, J. P., HEDMAN, C. J., KLAPER, R. D., Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. **Chemosphere**, 93, 2116-2123, 2013.

BORECKA, M., SIEDLEWICZ, G., HALIŃSKI, Ł. P., SIKORA, K., PAZDRO, K., STEPNOWSKI, P., BIAŁK-BIELIŃSKA, A., Contamination of the southern Baltic Sea waters by the residues of selected pharmaceuticals: Method development and field studies. **Marine Pollution Bulletin**, 94, 62-71, 2015.

BOYD, G. R., PALMERI, J. M., ZHANG, S., GRIMM, D. A., Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine disrupting chemicals (EDCs) in

stormwater canals and Bayou St. John in New Orleans, Louisiana, USA. **Science of The Total Environment**, 333, 137-148, 2004.

BREDAS, J. L., STREET, G. B., Polarons, bipolarons, and solitons in conducting polymers. **Accounts of Chemical Research**, 18, 309-315, 1985.

BRUCE, P. G., *Solid state electrochemistry*. (Cambridge university press, 1997), vol. 5.

BUCHBERGER, W. W., Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. **Journal of Chromatography A**, 1218, 603-618, 2011.

CABAN, M., LIS, E., KUMIRSKA, J., STEPNOWSKI, P., Determination of pharmaceutical residues in drinking water in Poland using a new SPE-GC-MS(SIM) method based on Speedisk extraction disks and DIMETRIS derivatization. **Science of The Total Environment**, 538, 402-411, 2015.

CALDAS, S. S., GONÇALVES, F. F., PRIMEL, E. G., PRESTES, O. D., MARTINS, M. L., ZANELLA, R., Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, 34, 1604-1617, 2011.

CARIS, J. A., CHAVES, A. R., QUEIROZ, M. E. C., Evaluation of solid-phase microextraction using a polythiophene film and liquid chromatography with spectrophotometric detection for the determination of antidepressants in plasma samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23, 57-64, 2012.

CASTILHOS, N. D. B., SAMPAIO, N. M. F. M., DA SILVA, B. C., RIEGEL-VIDOTTI, I. C., GRASSI, M. T., SILVA, B. J. G., Physical-chemical characteristics and potential use of a novel alginate/zein hydrogel as the sorption phase for polar organic compounds. **Carbohydrate Polymers**, 174, 507-516, 2017.

CASTRO, A. L., TARELHO, S., SILVESTRE, A., TEIXEIRA, H. M., Simultaneous analysis of some club drugs in whole blood using solid phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, 19, 77-82, 2012.

CAVALLARO, S., COLLIGIANI, A., CUM, G., Oxidative chemical polymerization of pyrrole. **Journal of thermal analysis**, 38, 2649-2655, 1992.

ČESEN, M., HEATH, E., Disk-based solid phase extraction for the determination of diclofenac and steroidal estrogens E1, E2 and EE2 listed in the WFD watch list by GC–MS. **Science of The Total Environment**, 590-591, 832-837, 2017.

CHAUHAN, A., *GC-MS Technique and its Analytical Applications in Science and Technology*. (2014), vol. 5.

CHAVES, A. R., CHIERICATO JÚNIOR, G., QUEIROZ, M. E. C., Solid-phase microextraction using poly(pyrrole) film and liquid chromatography with UV detection for analysis of antidepressants in plasma samples. **Journal of Chromatography B**, 877, 587-593, 2009.

CHEMICALIZE. Disponível em: www.chemicalize.org. Acessado em: 18/06/2018.

CHEN, J., ZOU, J., ZENG, J., SONG, X., JI, J., WANG, Y., HA, J., CHEN, X., Preparation and evaluation of graphene-coated solid-phase microextraction fiber. **Analytica Chimica Acta**, 678, 44-49, 2010.

CHO, H.-J., BAEK, K., LEE, H.-H., LEE, S.-H., YANG, J.-W., Competitive extraction of multi-component contaminants in water by carboxen–polydimethylsiloxane fiber during solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, 988, 177-184, 2003.

DALLEGRAVE, A. **Determinação de hormônios estrógenos e progestágenos em amostras ambientais por GC-MS**, 2012. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

DE HOFFMANN, E., STROOBANT, V., *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. (Wiley, 2007).

DE LIMA GOMES, P. C. F., BARLETTA, J. Y., NAZARIO, C. E. D., SANTOS-NETO, Á. J., VON WOLFF, M. A., CONEGLIAN, C. M. R., UMBUZEIRO, G. A., LANCAS, F. M., Optimization of in situ derivatization SPME by experimental design for GC-MS multi-residue analysis of pharmaceutical drugs in wastewater. **Journal of Separation Science**, 34, 436-445, 2011.

DEL VALLE, M. A., SOTO GIOVANNY, M., CANALES LUIS, I., DÍAZ FERNANDO, R., BERNÈDE, J. C., in *e-Polymers*. (2008), vol. 8.

DESBROW, C., ROUTLEDGE, E., BRIGHTY, G., SUMPTER, J., WALDOCK, M., Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. **Environmental Science & Technology**, 32, 1549-1558, 1998.

DU, W., ZHAO, F., ZENG, B., Novel multiwalled carbon nanotubes–polyaniline composite film coated platinum wire for headspace solid-phase microextraction and gas chromatographic determination of phenolic compounds. **Journal of Chromatography A**, 1216, 3751-3757, 2009.

ERGER, C., SCHMIDT, T. C., Disk-based solid-phase extraction analysis of organic substances in water. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 61, 74-82, 2014.

EVGENIDOU, E. N., KONSTANTINOU, I. K., LAMBROPOULOU, D. A., Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: a review. **Science of The Total Environment**, 505, 905-926, 2015.

FATTA, D., ACHILLEOS, A., NIKOLAOU, A., MERIÇ, S., Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 26, 515-533, 2007.

FLOREZ, D. H. Â., TEIXEIRA, R. A., DA SILVA, R. C. S., PIRES, B. C., DUTRA, F. V. A., BORGES, K. B., Pipette-tip solid-phase extraction using polypyrrole as efficient adsorbent for extraction of avermectins and milbemycins in milk. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 410, 3361-3374, 2018.

FONTANALS, N., MARCÉ, R. M., BORRULL, F., New hydrophilic materials for solid-phase extraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 24, 394-406, 2005.

GAVRILESCU, M., DEMNEROVÁ, K., AAMAND, J., AGATHOS, S., FAVA, F., Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New biotechnology**, 32, 147-156, 2015.

GEORGE, A., VEIS, A., FTIRS in water demonstrates that collagen monomers undergo a conformational transition prior to thermal self-assembly in vitro. **Biochemistry**, 30, 2372-2377, 1991.

GIESSE, R., DE PAOLI, M.-A., Photo-degradable polymer films derived from low density polyethylene. **Polymer degradation and stability**, 23, 201-207, 1989.

GLASSMEYER, S. T., FURLONG, E. T., KOLPIN, D. W., CAHILL, J. D., ZAUGG, S. D., WERNER, S. L., MEYER, M. T., KRYAK, D. D., Transport of chemical and microbial compounds from known wastewater discharges: potential for use as indicators of human fecal contamination. **Environmental science & technology**, 39, 5157-5169, 2005.

GUERRA, P., KIM, M., SHAH, A., ALAEE, M., SMYTH, S. A., Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. **Science of The Total Environment**, 473-474, 235-243, 2014.

HARREUS, A. L., in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000).

HAYES, T. B., KHOURY, V., NARAYAN, A., NAZIR, M., PARK, A., BROWN, T., ADAME, L., CHAN, E., BUCHHOLZ, D., STUEVE, T., Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 107, 4612-4617, 2010.

HILTON, M. J., THOMAS, K. V., Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1015, 129-141, 2003.

HORWITZ, W., *Official methods of analysis of AOAC International*. (AOAC International, Gaithersburg, Md., 2000).

IPPUC. Disponível em: <http://www.ippuc.org.br/mostrarpagina.php?pagina=350>. Acessado em: 18/06/2018.

JARDIM, I. C. S. F., Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas **Scientia Chromatographica**, 2, 13-25, 2010.

KHATI, K., JOSHI, I., BISHT, A., ZAIDI, M. G. H., Synthesis and Electrochemical Performance of Polypyrrole at High Scan Rates. **IOSR Journal of Applied Chemistry**, 9, 42-48, 2016.

KOLPIN, D. W., FURLONG, E. T., MEYER, M. T., THURMAN, E. M., ZAUGG, S. D., BARBER, L. B., BUXTON, H. T., Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, 36, 1202-1211, 2002.

KUCH, H. M., BALLSCHMITER, K., Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC–(NCI)–MS in the Picogram per Liter Range. **Environmental Science & Technology**, 35, 3201-3206, 2001.

KURISSERY, S., KANAVILLIL, N., VERENITCH, S., MAZUMDER, A., Caffeine as an anthropogenic marker of domestic waste: A study from Lake Simcoe watershed. **Ecological Indicators**, 23, 501-508, 2012.

KUSTER, M., AZEVEDO, D., DE ALDA, M. L., NETO, F. A., BARCELÓ, D., Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). **Environment international**, 35, 997-1003, 2009.

LAPWORTH, D., BARAN, N., STUART, M., WARD, R., Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence. **Environmental Pollution**, 163, 287-303, 2012.

LEE, J. Y., KIM, D. Y., KIM, C. Y., Synthesis of soluble polypyrrole of the doped state in organic solvents. **Synthetic Metals**, 74, 103-106, 1995.

LEE, J. Y., SONG, K. T., KIM, S. Y., KIM, Y. C., KIM, D. Y., KIM, C. Y., Synthesis and Characterization of Soluble Polypyrrole. **Synthetic Metals**, 84, 137-140, 1997.

LI, X., LI, C., CHEN, J., LI, C., SUN, C., Polythiophene as a novel fiber coating for solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, 1198-1199, 7-13, 2008.

LIM, C. W., SONG, K., KIM, S. H., Synthesis of PPy/silica nanocomposites with cratered surfaces and their application in heavy metal extraction. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 18, 24-28, 2012.

LIMA, B. D. **Otimização e validação de extração líquido-líquido microcontaminantes orgânicos em amostras de esgoto e análise por CG-EM**, 2013. Universidade Federal de Ouro Preto.

LITTLE, J., *Artifacts in trimethylsilyl derivatization reactions and ways to avoid them*. (1999), vol. 844, pp. 1-22.

LIU, Q., SHI, J., JIANG, G., Application of graphene in analytical sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 37, 1-11, 2012.

LIU, W., WANG, H., GUAN, Y., Preparation of stir bars for sorptive extraction using sol-gel technology. **Journal of Chromatography A**, 1045, 15-22, 2004.

LIU, X., WANG, X., TAN, F., ZHAO, H., QUAN, X., CHEN, J., LI, L., An electrochemically enhanced solid-phase microextraction approach based on molecularly imprinted polypyrrole/multi-walled carbon nanotubes composite coating for selective extraction of fluoroquinolones in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, 727, 26-33, 2012.

M. KO, J., RHEE, H.-W., PARK, S. M., KIM, C.-H., *Morphology and Electrochemical Properties of Polypyrrole Films Prepared in Aqueous and Nonaqueous Solvents*. (1990), vol. 137, pp. 905-909.

MACHADO, K. C., GRASSI, M. T., VIDAL, C., PESCARA, I. C., JARDIM, W. F., FERNANDES, A. N., SODRÉ, F. F., ALMEIDA, F. V., SANTANA, J. S., CANELA, M. C., NUNES, C. R. O., BICHINHO, K. M., SEVERO, F. J. R., A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. **Science of The Total Environment**, 572, 138-146, 2016.

MAKSYMIOUK, K., Chemical Reactivity of Polypyrrole and Its Relevance to Polypyrrole Based Electrochemical Sensors. **Electroanalysis**, 18, 1537-1551, 2006.

MARTÍN-ESTEBAN, A., Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 45, 169-181, 2013.

MARTÍN, J., SANTOS, J. L., APARICIO, I., ALONSO, E., Determination of hormones, a plasticizer, preservatives, perfluoroalkylated compounds, and a flame retardant in water samples by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid

microextraction based on the solidification of a floating organic drop. **Talanta**, 143, 335-343, 2015.

MATAMOROS, V., ARIAS, C. A., NGUYEN, L. X., SALVADÓ, V., BRIX, H., Occurrence and behavior of emerging contaminants in surface water and a restored wetland. **Chemosphere**, 88, 1083-1089, 2012.

MCNAIR, H. M., MILLER, J. M., *Basic gas chromatography*. (John Wiley & Sons, 2011).

MEHDINIA, A., AZIZ-ZANJANI, M. O., Recent advances in nanomaterials utilized in fiber coatings for solid-phase microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 42, 205-215, 2013.

MELO, L. F., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C., High-performance liquid chromatographic determination of pesticides in tomatoes using laboratory-made NH₂ and C18 solid-phase extraction materials. **Journal of Chromatography A**, 1073, 75-81, 2005.

MELO, L. P., NOGUEIRA, A. M., LANÇAS, F. M., QUEIROZ, M. E. C., Polydimethylsiloxane/polypyrrole stir bar sorptive extraction and liquid chromatography (SBSE/LC-UV) analysis of antidepressants in plasma samples. **Analytica Chimica Acta**, 633, 57-64, 2009.

MONTAGNER, C. C., JARDIM, W. F., Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 22, 1452-1462, 2011.

MOTTALEB, M. A., USENKO, S., O'DONNELL, J. G., RAMIREZ, A. J., BROOKS, B. W., CHAMBLISS, C. K., Gas chromatography–mass spectrometry screening methods for select UV filters, synthetic musks, alkylphenols, an antimicrobial agent, and an insect repellent in fish. **Journal of Chromatography A**, 1216, 815-823, 2009.

MÜLLER, F., FERREIRA, C. A., AMADO, F. D. R., RODRIGUES, M. A. S., Desenvolvimento de membranas e filmes auto-suportados a partir de polianilina: síntese, caracterização e aplicação. **Polímeros**, 21, 259-264, 2011.

MURRAY, K. E., THOMAS, S. M., BODOUR, A. A., Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. **Environmental Pollution**, 158, 3462-3471, 2010.

MUSTEATA, F. M., PAWLISZYN, J., Study of Ligand–Receptor Binding Using SPME: Investigation of Receptor, Free, and Total Ligand Concentrations. **Journal of Proteome Research**, 4, 789-800, 2005.

MUSTEATA, M. L., MUSTEATA, F. M., PAWLISZYN, J., Biocompatible solid-phase microextraction coatings based on polyacrylonitrile and solid-phase extraction phases. **Analytical Chemistry**, 79, 6903-6911, 2007.

NAKADA, N., TANISHIMA, T., SHINOHARA, H., KIRI, K., TAKADA, H., Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment. **Water Research**, 40, 3297-3303, 2006.

ORATA, F., in *Advanced Gas Chromatography-Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications*. (InTech, 2012).

OSHITA, D., JARDIM, I. C. S. F., Comparison of Different Sorbents in the QuEChERS Method for the Determination of Pesticide Residues in Strawberries by LC–MS/MS. **Chromatographia**, 77, 1291-1298, 2014.

PAÍGA, P., LOLIĆ, A., HELLEBUYCK, F., SANTOS, L. H. M. L. M., CORREIA, M., DELERUE-MATOS, C., Development of a SPE–UHPLC–MS/MS methodology for the determination of non-steroidal anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in seawater. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 106, 61-70, 2015.

PASQUINI, L., MUNOZ, J.-F., PONS, M.-N., YVON, J., DAUCHY, X., FRANCE, X., LE, N. D., FRANCE-LANORD, C., GÖRNER, T., Occurrence of eight household micropollutants in urban wastewater and their fate in a wastewater treatment plant. Statistical evaluation. **The Science of the total environment**, 481, 459-468, 2014.

PATTANANUWAT, P., AHT-ONG, D., Controllable morphology of polypyrrole wrapped graphene hydrogel framework composites via cyclic voltammetry with aiding of poly (sodium 4-styrene sulfonate) for the flexible supercapacitor electrode. **Electrochimica Acta**, 224, 149-160, 2017.

PAWLISZYN, J., Theory of solid-phase microextraction. **Journal of Chromatographic Science**, 38, 270-278, 2000.

PEREIRA, A. D. S., AQUINO NETO, F. R. D., Estado da arte da cromatografia gasosa de alta resolução e alta temperatura. **Química Nova**, 23, 370-379, 2000.

PINSRITHONG, S., BUNKOED, O., Hierarchical porous nanostructured polypyrrole-coated hydrogel beads containing reduced graphene oxide and magnetite nanoparticles for extraction of phthalates in bottled drinks. **Journal of Chromatography A**, 1570, 19-27, 2018.

POMATI, F., CASTIGLIONI, S., ZUCCATO, E., FANELLI, R., VIGETTI, D., ROSSETTI, C., CALAMARI, D., Effects of a Complex Mixture of Therapeutic Drugs at Environmental Levels on Human Embryonic Cells. **Environmental Science & Technology**, 40, 2442-2447, 2006.

PUBCHEM. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Acessado em: 18/06/2018.

QUINTANA, J., CARPINTEIRO, J., RODRÍGUEZ, I., LORENZO, R., CARRO, A., CELA, R., Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, 1024, 177-185, 2004.

RAMÍREZ-GARCÍA, S., BAEZA, M., O'TOOLE, M., WU, Y., LALOR, J., WALLACE, G. G., DIAMOND, D., Towards the development of a fully integrated polymeric microfluidic platform for environmental analysis. **Talanta**, 77, 463-467, 2008.

RIBEIRO, C., PARDAL, M. Â., MARTINHO, F., MARGALHO, R., TIRITAN, M. E., ROCHA, E., ROCHA, M. J., Distribution of endocrine disruptors in the Mondego River estuary, Portugal. **Environmental Monitoring and Assessment**, 149, 183-193, 2009.

ROCHESTER, J. R., Bisphenol A and human health: a review of the literature. **Reproductive toxicology**, 42, 132-155, 2013.

RODIL, R., QUINTANA, J. B., CONCHA-GRAÑA, E., LÓPEZ-MAHÍA, P., MUNIATEGUI-LORENZO, S., PRADA-RODRÍGUEZ, D., Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, 86, 1040-1049, 2012.

RODRIGUES, R., LACERDA, C., LANÇAS, F. M., Coating of solid-phase microextraction fibers with chemically bonded silica particles: Selective extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking water samples. **Journal of Chromatographic Science**, 40, 489-494, 2002.

RODRIGUEZ-MOZAZ, S., LÓPEZ DE ALDA, M. J., BARCELÓ, D., Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction–liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1045, 85-92, 2004.

SABAH, S., AGHAMOHAMMADI, M., ALIZADEH, N., Solid-State valproate ion selective sensor based on conducting polypyrrole films for determination of valproate in pharmaceutical preparations. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 114, 489-496, 2006.

SADANALA, K. C., LEE, J., CHUNG, B. C., CHOI, M. H., Targeted Metabolite Profiling: Sample Preparation Techniques for GC-MSBased Steroid Analysis. **Mass Spectrometry Letters**, 3, 4-9, 2012.

ŞAHİN, M., ŞAHİN, Y., ÖZCAN, A., Ion chromatography-potentiometric detection of inorganic anions and cations using polypyrrole and overoxidized polypyrrole electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 133, 5-14, 2008.

SANCHEZ-PRADO, L., GARCIA-JARES, C., DAGNAC, T., LLOMPART, M., Microwave-assisted extraction of emerging pollutants in environmental and biological samples before chromatographic determination. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 71, 119-143, 2015.

SANTOS NETO, A. J. D., SIQUEIRA, M. E. P. B. D., Análise de praguicidas organofosforados em água por extração em fase sólida (SPE) utilizando discos C18 e cromatografia em fase gasosa: avaliação da contaminação do reservatório de Furnas (MG-Brasil). **Química Nova**, 28, 747-750, 2005.

SARAJI, M., REZAEI, B., BOROUJENI, M. K., BIDGOLI, A. A. H., Polypyrrole/sol-gel composite as a solid-phase microextraction fiber coating for the determination of organophosphorus pesticides in water and vegetable samples. **Journal of Chromatography A**, 1279, 20-26, 2013.

SCHUMMER, C., DELHOMME, O., APPENZELLER, B. M. R., WENNIG, R., MILLET, M., Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis. **Talanta**, 77, 1473-1482, 2009.

SHINDE, S. S., GUND, G. S., DUBAL, D. P., JAMBURE, S. B., LOKHANDE, C. D., Morphological modulation of polypyrrole thin films through oxidizing agents and their concurrent effect on supercapacitor performance. **Electrochimica Acta**, 119, 1-10, 2014.

SILVA, B. J. G., LANÇAS, F. M., QUEIROZ, M. E. C., Determination of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers in human plasma by polypyrrole-coated capillary in-

tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, 1216, 8590-8597, 2009.

SKOTHEIM, T. A., REYNOLDS, J., *Conjugated polymers: theory, synthesis, properties, and characterization*. (CRC press, 2006).

SMITH, R. M., Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. **Journal of Chromatography A**, 1000, 3-27, 2003.

SODRÉ, F., MONTAGNER, C., LOCATELLI, M., JARDIM, W., Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol**, 2, 187-196, 2007.

SODRÉ, F. F., LOCATELLI, M. A. F., JARDIM, W. F., Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: a sewage-to-tap issue. **Water, air, and soil pollution**, 206, 57-67, 2010.

SOPHIA A, C., LIMA, E. C., Removal of emerging contaminants from the environment by adsorption. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 150, 1-17, 2018.

SOUZA, D. A., LANÇAS, F. M., Solventless Sample Preparation for Pesticides Analysis in Environmental Water Samples Using Solid-Phase Microextraction-High Resolution Gas Chromatography/Mass Spectrometry (SPME-HRGC/MS). **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, 38, 417-428, 2003.

STUART, M., LAPWORTH, D., CRANE, E., HART, A., Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. **Science of The Total Environment**, 416, 1-21, 2012.

SZULTKA, M., KEGLER, R., FUCHS, P., OLSZOWY, P., MIEKISCH, W., SCHUBERT, J. K., BUSZEWSKI, B., MUNDKOWSKI, R. G., Polypyrrole solid phase microextraction: a new approach to rapid sample preparation for the monitoring of antibiotic drugs. **Analytica Chimica Acta**, 667, 77-82, 2010.

TIJANI, J. O., FATOBA, O. O., PETRIK, L. F. J. W., AIR,, POLLUTION, S., A review of pharmaceuticals and endocrine-disrupting compounds: sources, effects, removal, and detections. 224, 1770, 2013.

TONELLI, D., BALLARIN, B., GUADAGNINI, L., MIGNANI, A., SCAVETTA, E., A novel potentiometric sensor for l-ascorbic acid based on molecularly imprinted polypyrrole. **Electrochimica Acta**, 56, 7149-7154, 2011.

TRAN, A. T., HYNE, R. V., DOBLE, P., Determination of commonly used polar herbicides in agricultural drainage waters in Australia by HPLC. **Chemosphere**, 67, 944-953, 2007.

TRAN, N. H., HU, J., ONG, S. L., Simultaneous determination of PPCPs, EDCs, and artificial sweeteners in environmental water samples using a single-step SPE coupled with HPLC–MS/MS and isotope dilution. **Talanta**, 113, 82-92, 2013.

VALLS-CANTENYS, C., SCHEURER, M., IGLESIAS, M., SACHER, F., BRAUCH, H.-J., SALVADO, V., *A sensitive multi-residue method for the determination of 35 micropollutants including pharmaceuticals, iodinated contrast media and pesticides in water.* (2016), vol. 408.

VERA, R., INSA, S., FONTÀS, C., ANTICÓ, E., A new extraction phase based on a polymer inclusion membrane for the detection of chlorpyrifos, diazinon and cyprodinil in natural water samples. **Talanta**, 185, 291-298, 2018.

VOM SAAL, F. S., MYERS, J., Bisphenol a and risk of metabolic disorders. **JAMA**, 300, 1353-1355, 2008.

VULLIET, E., TOURNIER, M., VAUCHEZ, A., WUEST, L., BAUDOT, R., LAFAY, F., KISS, A., CREN-OLIVÉ, C., Survey regarding the occurrence of selected organic micropollutants in the groundwaters of overseas departments. **Environmental Science and Pollution Research**, 21, 7512-7521, 2014.

WANG, C., SHI, H., ADAMS, C. D., GAMAGEDARA, S., STAYTON, I., TIMMONS, T., MA, Y., Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Water Research**, 45, 1818-1828, 2011.

WANG, J., WANG, S., Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants. **Chemical Engineering Journal**, 334, 1502-1517, 2018.

WEIGEL, S., KUHLMANN, J., HÜHNERFUSS, H., Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. **Science of The Total Environment**, 295, 131-141, 2002.

WILKINSON, J., HOODA, P. S., BARKER, J., BARTON, S., SWINDEN, J., Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: An overarching review of the field. **Environmental Pollution**, 231, 954-970, 2017.

WOLKERS, W. F., OLIVER, A. E., TABLIN, F., CROWE, J. H., A Fourier-transform infrared spectroscopy study of sugar glasses. **Carbohydrate Research**, 339, 1077-1085, 2004.

WU, J., PAWLISZYN, J., Preparation and applications of polypyrrole films in solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, 909, 37-52, 2001.

WU, J., PAWLISZYN, J., Solid-phase microextraction based on polypyrrole films with different counter ions. **Analytica Chimica Acta**, 520, 257-264, 2004.

XIE, Y., DU, H., Electrochemical capacitance of a carbon quantum dots–polypyrrole/titania nanotube hybrid. **RSC Advances**, 5, 89689-89697, 2015.

ZWIR-FERENC, A., BIZIUK, M., *Solid phase extraction technique - Trends, opportunities and applications*. (2006), vol. 15, pp. 677-690.